

# **Synthese und Charakterisierung neuer zwitterionischer stationärer Phasen für die Zwitterionenchromatographie und die ZIC-HILIC**

## **Dissertation**

zur  
Erlangung des Doktorgrades  
der Naturwissenschaften  
(Dr. rer. nat.)

dem

Fachbereich Chemie  
der Philipps-Universität Marburg

vorgelegt von

**Dipl.-Chem. Lukas Sonnenschein**

geboren am 19. September 1981 in Langenhagen

Marburg/Lahn 2010

Vom Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg (Hochschulkennziffer: 1180) als  
Dissertation am 06. Dezember 2010 angenommen.

Erstgutachter:  
Zweitgutachter:

Prof. Dr. Andreas Seubert  
Prof. Dr. Ulrich Tallarek

Tag der mündlichen Prüfung:

14. Dezember 2010

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juli 2007 bis Dezember 2010 am Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Andreas Seubert angefertigt.

Herrn Prof. Dr. Andreas Seubert danke ich herzlich für die Überlassung des Themas sowie die freundliche und konstruktive Unterstützung beim Zustandekommen dieser Arbeit.

Für die freundliche Übernahme des Koreferates danke ich Herrn Prof. Dr. Ulrich Tallarek.

Mein besonderer Dank gilt der Firma Metrohm AG, Herisau, Schweiz, für die großzügige finanzielle und materielle Unterstützung. Zudem bedanke ich mich bei Herrn Prof. Dr. Gerhard Hilt sowie seinem Mitarbeiter Martin Bohn für die konstruktive Unterstützung beim Zustandekommen einer organisch-synthetischen Veröffentlichung.

Des Weiteren gilt mein Dank allen Arbeitskreismitgliedern für die gute Zusammenarbeit, viele hilfreiche Tipps und das angenehme Arbeitsklima. Zu besonderem Dank bin ich Patrick Gödecke für die zeitweise Überlassung des Bioscan, konstruktive Gespräche und das Korrekturlesen der Arbeit verpflichtet. Mareike Wacker danke ich für die geduldige Einweisung am ICP-AES und an der RFA, Katrin Schabram für die Aufnahme von REM-Bildern. Zudem danke ich Karsten Müller für die Unterstützung in Netzwerk- und Computerfragen, Jürgen Knöll für die Hilfe bei den durchgeführten ICP-MS-Messungen und Rüdiger Penzel für seine Unterstützung im Umgang mit IC-Geräten und vor allem für den „Getränkesservice“.

Besonderer Dank gilt an dieser Stelle meiner Frau Kathrin, die mich mit allen erdenklichen Mitteln unterstützt hat und durch ihr Lektorat konstruktiv an der Entstehung dieser Arbeit mitgewirkt hat. Zu großem Dank verpflichtet bin ich auch meinen Eltern, die mich fortwährend emotional und finanziell unterstützt haben, und besonders meinem Vater, für die gewinnbringende Korrektur des Manuskripts. Für die mir zuteil gewordene jahrelange Hilfe und Unterstützung in allen Lebenslagen widme ich diese Arbeit meinen Eltern.



# Kurzzusammenfassung

Lukas Sonnenschein

## **Synthese und Charakterisierung neuer zwitterionischer stationärer Phasen für die Zwitterionenchromatographie und die ZIC-HILIC**

Stichworte: ZIC-HILIC, Stationäre Phase, ZIC, Pfropfpolymerisation, Sulfobetain.

Durch Anwendung einer Pfropfpolymerisation zur Funktionalisierung von Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymeren kann eine homologe Reihe von fünf neuen zwitterionischen Sulfobetain-Austauschern hergestellt werden. Diese tragen quartäre Amine als Anionenaustauscherfunktionen nahe am Polymerkern und außenliegende Sulfonsäuregruppen als Kationenaustauscher. Die Unterschiede der fünf Materialien liegen ausschließlich in den Abständen dieser funktionellen Gruppen, die von einer CH<sub>2</sub>-Gruppe bis zu fünf CH<sub>2</sub>-Gruppen reichen. Aufgrund identischer Funktionalisierungsreaktionen, bei denen eine homologe Reihe zwitterionischer Vorläufermoleküle eingesetzt werden, können Austauscher mit gleichem Grundmaterial, identischen Abstandsgruppen zu den polymeren Grundpartikeln und vergleichbaren Kapazitäten hergestellt werden. Um die Vergleichbarkeit der Kapazitäten sicherstellen zu können, werden verschiedene Methoden zur Kapazitätsbestimmung an zwitterionischen Austauschermaterialien untersucht und gegenübergestellt.

Das chromatographische Verhalten der hergestellten Austauscher in Abhängigkeit der Abstände zwischen den Ladungen wird untersucht, indem anorganische Anionen unter Verwendung von Natriumacetat-Eluenten getrennt werden. Die Veränderung der Retentionsfaktoren wird in Bezug auf Variationen der Eluentenstärke sowie der Eluent-pH-Werte untersucht. Neben der Trennung anorganischer Anionen werden die hergestellten Materialien auch auf ihre Fähigkeit zur Trennung von  $\alpha$ -Aminosäuren mit rein wässrigen Eluenten untersucht.

Des Weiteren werden Trennungen unter HILIC-Bedingungen, d. h. mit steigenden Acetonitrilanteilen, durchgeführt. Als Analyten kommen dafür anorganische Anionen, Carbonsäuren, Flavonoide sowie pharmakologische Wirkstoffe zum Einsatz. Die – unter Einsatz der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher – durchgeführten Experimente führen zu einem tieferen Verständnis der ZIC und ZIC-HILIC-Mechanismen. Zudem liefert der erzeugte Satz an zwitterionischen Austauschern die Möglichkeit einer weiteren Optimierung zwitterionischer Phasen und damit eine bessere Anpassung an spezielle Trennprobleme.



# Abstract

Lukas Sonnenschein

## **Synthesis and characterization of new zwitterionic stationary phases for deployment in zwitterionic ion chromatography and ZIC-HILIC**

Keywords: ZIC-HILIC, stationary phase, ZIC, grafting, sulfobetain.

A set of five new sulfobetain exchangers with inner quaternary amines and outer sulfonic acids could be prepared by applying a grafting reaction. The difference in these five materials is the distance between the charged functional groups varying from one to five methylene groups. Due to the identical reactions and usage of a homologous row of zwitterionic precursors, exchangers with the same core material, identical spacers to the polymeric backbone as well as comparable capacities can be prepared. To verify comparable capacities different methods for the determination of capacities of zwitterionic exchangers are compared.

The behaviour of these materials depending on chain length of the functional groups is examined using separations of inorganic anions with sodium acetate eluents at varying ionic strength and pH. Beside separations of inorganic anions the behavior of the synthesized materials concerning separation of  $\alpha$ -amino acids using aqueous eluents is studied.

Further characterisations are carried out using HILIC-mode separations. The volume fraction of acetonitrile – as organic modifier – is increased step by step and the changes in capacity factors of inorganic anions, carboxylic acids, flavonoids as well as pharmacological agents are studied. The accomplished experiments – utilizing the homologous row of zwitterionic exchangers – lead to a further understanding of ZIC and ZIC-HILIC mechanisms and give new opportunities in optimizing stationary phases for ZIC and ZIC-HILIC.





# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis</b>	<b>V</b>
<b>1 Einleitung und Aufgabenstellung</b>	<b>1</b>
<b>2 Grundlagen der Chromatographie</b>	<b>5</b>
2.1 Chromatographische Kenngrößen . . . . .	6
2.1.1 Retentionsparameter . . . . .	6
2.1.2 Parameter zur Beschreibung der Qualität einer Trennung . . . . .	8
2.2 Theoretische Konzepte der Chromatographie . . . . .	9
2.2.1 Modell der theoretischen Trennböden . . . . .	10
2.2.2 Kinetische Theorie . . . . .	11
2.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie . . . . .	12
2.3.1 Trennprinzipien der HPLC . . . . .	12
2.3.2 Retentionsmodelle der RP-HPLC . . . . .	13
2.4 Ionenchromatographie . . . . .	14
2.4.1 Trennmechanismus der Ionenaustauschchromatographie . . . . .	15
2.4.2 Trennmechanismen der Ionenpaarchromatographie . . . . .	16
2.4.3 Trennmechanismen der Ionenausschlusschromatographie . . . . .	17
2.4.4 Retentionsmodell der Ionenaustauschchromatographie . . . . .	18
2.5 Zwitterionenchromatographie/Hydrophile Interaktionschromatographie . . . . .	20
2.5.1 Retentionsmechanismen der ZIC . . . . .	20
2.5.2 Retentionsmechanismus der HILIC . . . . .	26
2.5.3 Kombinierte Retentionsmechanismen der ZIC-HILIC . . . . .	29
2.6 Apparativer Aufbau von HPLC-Methoden . . . . .	30
2.6.1 Eluenten in ZIC und ZIC-HILIC . . . . .	31
2.6.2 Detektion in der HPLC . . . . .	31
2.6.2.1 UV/VIS-Detektion . . . . .	32
2.6.2.2 Leitfähigkeits-Detektion . . . . .	32
2.6.2.3 Kopplungsmethoden . . . . .	33
2.6.2.4 Gepulste amperometrische Detektion . . . . .	33
<b>3 Stationäre Phasen in HILIC und ZIC-HILIC</b>	<b>35</b>
3.1 Stationäre Phasen in der HILIC . . . . .	35
3.2 Zwitterionische stationäre Phasen . . . . .	37
3.2.1 Dynamisch belegte zwitterionische Austauscher . . . . .	39
3.2.2 Austauscher mit kovalent gebundenen zwitterionischen Gruppen . . . . .	41
<b>4 Agglomerierte Austauscher in der Anionenaustauschchromatographie</b>	<b>45</b>
<b>5 Pfropfpolymerisation zur Darstellung zwitterionischer Austauscher</b>	<b>47</b>
5.1 Grundlagen der Pfropfpolymerisation . . . . .	48
5.2 Kapazitätsbestimmung ge-grafteter zwitterionischer Austauscher . . . . .	50

<b>6</b>	<b>Ergebnisse und Diskussion</b>	<b>53</b>
6.1	Synthese neuer zwitterionischer Monomere . . . . .	53
6.1.1	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB1</b> . . . . .	56
6.1.2	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB2</b> . . . . .	58
6.1.3	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB3</b> . . . . .	60
6.1.4	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB4</b> . . . . .	62
6.1.5	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB5</b> . . . . .	63
6.1.6	Herstellung des inversen Sulfobetainmonomers <b>SBi3</b> . . . . .	67
6.2	Untersuchungen an den zwitterionischen Monomeren . . . . .	72
6.2.1	Bestimmung der Gegenionen sowie anorganischer Verunreinigungen .	73
6.2.2	Versuch des Nachweises innerer Ionenpaare mittels NMR-Titration . .	78
6.2.3	Homopolymerisationsexperimente . . . . .	83
6.2.4	Polaritätsbestimmungen der zwitterionischen Monomere . . . . .	97
6.3	Herstellung neuer stationärer Phasen für die Zwitterionenchromatographie . . .	101
6.3.1	Pfropfpolymerisation der neuen Monomere . . . . .	101
6.3.2	Liste der hergestellten stationären Phasen . . . . .	102
6.4	Herstellung neuer Latex-Austauscher für die Anionenchromatographie . . . . .	105
6.4.1	Herstellung und Vorbereitung der zwitterionischen Grundpartikel . . .	105
6.4.2	Belegung der Grundkörper mit Latex-Partikeln . . . . .	106
6.4.3	Liste der hergestellten Latex-Austauscher . . . . .	106
6.5	Kapazitätsbestimmungen der zwitterionischen Austauscher . . . . .	108
6.5.1	Dynamische Kapazitätsbestimmungen . . . . .	109
6.5.1.1	Beladung unbelegter Trennsäulen mit Natriumiodid . . . . .	112
6.5.1.2	Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid . . . . .	114
6.5.1.3	Verdrängung von Natriumsulfat durch Natriumiodid . . . . .	117
6.5.1.4	Annäherung der Kapazitäten über die Anionenretention . . . . .	120
6.5.2	Elementspezifische Methoden der Kapazitätsbestimmung . . . . .	122
6.5.2.1	Kapazitätsbestimmung mittels Elementaranalyse . . . . .	123
6.5.2.2	Kapazitätsbestimmung mittels ICP-AES . . . . .	127
6.5.2.3	Kapazitätsbestimmung mittels Röntgenfluoreszenzanalyse . . . . .	130
6.5.3	Herstellung zwitterionischer Austauscher vergleichbarer Kapazitäten . .	132
6.6	Chromatographische Charakterisierung mittels Reinstwasser Eluenten . . . . .	136
6.6.1	Trennung von Anionengemischen . . . . .	138
6.6.2	Einfluss der Konditionierung der Materialien . . . . .	139
6.6.3	Trennung von Kationengemischen . . . . .	143
6.6.4	Einfluss der Analytkonzentration auf die Anionentrennung . . . . .	145
6.7	Chromatographische Charakterisierung unter ZIC-Bedingungen . . . . .	147
6.7.1	Vorversuche mit 2 mm-Trennsäulen . . . . .	147
6.7.1.1	Vorversuche unter Verwendung eines Natriumsulfat-Eluenten . . . . .	147
6.7.1.2	Vorversuche unter Verwendung von Carbonat-Eluenten . . . . .	150
6.7.1.3	Vorversuche unter Verwendung von Acetat-Eluenten . . . . .	153
6.7.2	Anionentrennung . . . . .	155
6.7.2.1	Variation der Elutionenstärke . . . . .	158
6.7.2.2	Variation des Eluent-pH-Werts . . . . .	162
6.7.3	Aminosäurentrennung . . . . .	168
6.7.3.1	Variation des Eluent-pH-Werts . . . . .	171
6.7.3.2	Variation der Elutionenstärke . . . . .	175
6.7.3.3	Aminosäurentrennungen mit Salpetersäure-Eluenten . . . . .	178

6.7.4	Retention von RP-HPLC-Analyten . . . . .	182
6.7.5	Trennung aromatischer Carbonsäuren . . . . .	187
6.8	Chromatographische Charakterisierung unter HILIC-Bedingungen . . . . .	192
6.8.1	Modifizierstabilität der stationären Phasen . . . . .	192
6.8.2	Anionentrennungen . . . . .	195
6.8.2.1	Modifizierabhängigkeit der Anionentrennung . . . . .	196
6.8.2.2	Variation der Elutionenstärke . . . . .	201
6.8.2.3	Variation des Eluent-pH-Werts . . . . .	204
6.8.3	Trennung aliphatischer Carbonsäuren . . . . .	207
6.8.3.1	Modifizierabhängigkeit der Carbonsäuretrennungen . . . . .	208
6.8.3.2	Einsetzbarkeit eines Natriumperchlorat-Eluenten . . . . .	210
6.8.3.3	Modifizierabhängigkeit bei Natriumacetat-Eluenten . . . . .	211
6.8.3.4	Variation des Eluent-pH-Werts . . . . .	214
6.8.3.5	Variation der Elutionenstärke . . . . .	218
6.8.3.6	Chromatographische Trennungen der Carbonsäuren . . . . .	218
6.8.4	Trennung von Flavonoiden . . . . .	222
6.9	Chromatographische Charakterisierung der Latex-Anionenaustauscher . . . . .	228
6.9.1	Peakasymmetrien bei kommerziellen Latex-Austauschern . . . . .	229
6.9.2	Kationenaustauschkapazität kommerzieller Latexaustauscher . . . . .	232
6.9.3	Untersuchungen an Latex-Austauschern auf zwitterionischer Basis . . . . .	235
<b>7</b>	<b>Experimenteller Teil</b>	<b>247</b>
7.1	Verwendete Chemikalien . . . . .	247
7.2	Synthese der zwitterionischen Monomere . . . . .	253
7.2.1	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB1</b> . . . . .	254
7.2.2	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB2</b> . . . . .	255
7.2.3	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB3</b> . . . . .	257
7.2.4	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB4</b> . . . . .	259
7.2.5	Herstellung des Sulfobetainmonomers <b>SB5</b> . . . . .	260
7.2.6	Herstellung des inversen Sulfobetainmonomers <b>SBi3</b> . . . . .	261
7.3	Homopolymerisationsexperimente . . . . .	263
7.4	Herstellung neuer zwitterionischer stationärer Phasen . . . . .	265
7.4.1	Oberflächenfunktionalisierung von PS-DVB-Grundmaterialien . . . . .	265
7.4.1.1	Vorbereitung des Trägermaterials . . . . .	265
7.4.1.2	Durchführung der Pfropfpolymerisationen . . . . .	266
7.5	Herstellung agglomerierter Anionenaustauscher . . . . .	267
7.6	Packen von Trennsäulen . . . . .	268
7.7	Kapazitätsbestimmungen . . . . .	269
7.7.1	Dynamische Kapazitätsbestimmungen . . . . .	269
7.7.1.1	Beladung unbelegter Trennsäulen mit Natriumiodid . . . . .	270
7.7.1.2	Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid . . . . .	271
7.7.1.3	Verdrängung von Natriumsulfat durch Natriumiodid . . . . .	272
7.7.2	Elementspezifische Methoden der Kapazitätsbestimmung . . . . .	273
7.7.2.1	Kapazitätsbestimmung mittels Elementaranalyse . . . . .	274
7.7.2.2	Kapazitätsbestimmung mittels ICP-AES-Analytik . . . . .	274
7.7.2.3	Kapazitätsbestimmung mittels Röntgenfluoreszenzanalyse . . . . .	275
7.8	Herstellung der verwendeten Lösungen . . . . .	275
7.8.1	Messstandards für die Chromatographie . . . . .	276

---

7.8.2	Eluenten . . . . .	278
7.8.3	Regenerant für die Leitfähigkeitsdetektion . . . . .	278
7.8.4	Nachsäulenadditiv für die PAD . . . . .	278
7.9	Aufbau der verwendeten chromatographischen Systeme . . . . .	279
7.9.1	Aufbau des Systems mit suppressierter Leitfähigkeitsdetektion . . . . .	279
7.9.2	Aufbau des Systems mit UV/VIS-Detektion . . . . .	279
7.9.3	Aufbau des Systems mit amperometrischer Detektion . . . . .	280
7.10	Gerätespezifikationen . . . . .	282
7.10.1	Spezifikationen der chromatographischen Systeme . . . . .	282
7.10.2	Spezifikationen der weiteren verwendeten Geräte . . . . .	282
<b>8</b>	<b>Zusammenfassung und Ausblick</b>	<b>285</b>
	<b>Literaturverzeichnis</b>	<b>289</b>
	<b>Lebenslauf</b>	<b>301</b>
	<b>Publikationsverzeichnis</b>	<b>303</b>

# Abkürzungsverzeichnis

DEMA	Diethanolmethylamin
DMAES	2-(Dimethylamino)-ethylsulfonat
DMAPS	2-(Dimethylamino)-propylsulfonat
DMEA	Dimethylethanolamin
EDL	Binäre elektrische Doppelschicht, engl. <i>Binary Electrical Double Layer</i>
ESI-MS	Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometer
EVB/DVB	Ethylvinylbenzol/Divinylbenzol
FIA	Fließinjektionsanalyse, engl. <i>Flow Injection Analysis</i>
GC	Gaschromatographie, engl. <i>Gas Chromatography</i>
HARZ	Polymeres Trägermaterial für Anionen- und Kationenaustauschergruppen, z. B. auf Basis von PS/DVB
HEMA	2-Hydroxyethylmethacrylat-Polymer
HETP	Höhe eines theoretischen Bodens, engl. <i>Height Equivalent to a Theoretical Plate</i>
HDPE	Polyethylen mit hohem Molekulargewicht, engl. <i>High Density Polyethylene</i>
HILIC	Hydrophile Interaktionschromatographie, engl. <i>Hydrophilic Interaction Chromatography</i>
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, engl. <i>High Performance Liquid Chromatography</i>
IC	Ionenchromatographie, engl. <i>Ion Chromatography</i>
ICE	Ionenausschlusschromatographie, engl. <i>Ion Chromatography Exclusion</i>
ICP-AES	Induktiv gekoppelte Plasma-Atomemissionsspektrometrie, engl. <i>Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometry</i>
ICP-MS	Induktiv gekoppelte Plasma-Massenspektrometrie, engl. <i>Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry</i>
IEC	Ionenaustauschchromatographie, engl. <i>Ion Exchange Chromatography</i>
IPC	Ionenpaarchromatographie, engl. <i>Ion Pair Chromatography</i>
KPS	Kaliumperoxodisulfat
LC	Flüssigkeitschromatographie, engl. <i>Liquid Chromatography</i>
MS	Massenspektrometrie, engl. <i>Mass Spectrometry</i>
NMR	Kernresonanzspektroskopie, engl. <i>Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry</i>
NP-HPLC	Normalphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, engl. <i>Normal Phase High Performance Liquid Chromatography</i>
PAD	Gepulste amperometrische Detektion, engl. <i>Pulsed Amperometric Detection</i>
PE	Polyethylen
PEEK	Poly-Ether-Ether-Keton
PS/DVB	Polystyrol/Divinylbenzol
RP-HPLC	Umkehrphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, engl. <i>Reversed Phase High Performance Liquid Chromatography</i>
SFC	Überkritische Flüssigkeitschromatographie, engl. <i>Supercritical Fluid Chromatography</i>

TEA	Triethanolamin
THF	Tetrahydrofuran
UV/VIS	Spektralphotometrie im ultravioletten und sichtbaren (visuellen) Bereich
VBC	4-Vinylbenzylchlorid
VBI	4-Vinylbenzyljodid
VB-	4-Vinylbenzyl-
VB-TMA	Trimethyl-(4-vinylbenzyl)-ammoniumiodid
VP-	4-Vinylphenyl-
ZIC	Zwitterionenchromatographie, engl. <i>Zwitterionic Ion Chromatography</i>
ZIC-pHILIC	Kommerziell erhältliche ZIC-HILIC-Trennsäule mit polymerem Grundmaterial, Fa. SeQuant/Merck, Darmstadt, Deutschland

# 1 Einleitung und Aufgabenstellung

Innerhalb der letzten 10 Jahre gewinnt die Hydrophile Interaktionschromatographie (engl. *Hydrophilic Interaction Chromatography*, HILIC) zunehmend an Interesse<sup>[1][2]</sup>. Der Hauptgrund für dieses Interesse ist in den Polaritätsverhältnissen zwischen mobiler und stationärer Phase zu sehen.

Bei der HILIC handelt es sich um eine chromatographische Methode, bei der es zu einer Partitionierung von Analyten zwischen einer wasserreichen, quasi unbeweglichen Schicht an einer hydrophilen stationären Phase und einer hydrophoben mobilen Phase kommt<sup>[3]</sup>. Die Polaritäten sind also vergleichbar mit denen der Normalphasen-Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl. *Normal Phase High Performance Liquid Chromatography*, NP-HPLC)<sup>[4]</sup>, ohne jedoch den schwerwiegenden Nachteilen dieser Methode zu unterliegen. Die HILIC wird daher auch gerne als „umgekehrte Umkehrphasen-HPLC (engl. *Reversed Phase HPLC*, RP-HPLC)“ bezeichnet. Die Elutionsreihenfolge in der HILIC ist in der Tat auch in vielen Fällen gerade umgekehrt der Elutionsreihenfolge in der RP-HPLC<sup>[5]</sup>. Aus diesem Grund eignet sich die HILIC besonders für die Trennung polarer organischer Substanzen, die im Rahmen der RP-HPLC im oder nahe am Totvolumen eluieren. Zu dieser Klasse von Substanzen zählen u. a. Kohlenhydrate<sup>[6]</sup>, Aminosäuren<sup>[7]</sup>, Proteine<sup>[8]</sup> sowie diverse pharmakologische Wirkstoffe<sup>[9]</sup>. Besonders die Tatsache, dass eine Vielzahl von für den Menschen physiologisch bedeutsamen Substanzen mit dieser Methode untersucht werden können, treibt die Forschung auf diesem Gebiet voran. Zudem spricht die aufgrund der verwendeten Eluenten sehr gute Verträglichkeit mit dem Elektrospray-Ionisations-Massenspektrometer (ESI-MS) für diese Methode<sup>[8]</sup>. Aber auch die Verwendung der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (engl. *Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry*, ICP-MS) als Detektionsmethode zur Bestimmung von Cisplatin-Spezies ist durch die Wahl geeigneter organischer Modifier möglich<sup>[10]</sup>.

Austauschermaterialien für HILIC-Trennungen weisen eine sehr große Bandbreite auf. Die Unterschiede der Materialien liegen sowohl in den jeweiligen funktionellen Gruppen, als auch in den verwendeten Grundmaterialien. Neben den klassischen Austauschern – wie Diol- oder Amid-Phasen – werden seit einigen Jahren auch zwitterionische Materialien für HILIC-Trennungen eingesetzt. Diese bieten neben den gewünschten Polaritätsverhältnissen den Vorteil, dass auch die ionischen Gruppen im Rahmen elektrostatischer Wechselwirkungen in den Trennprozess

eingreifen können. Dieser Prozess wurde von *Cook et al.* als Zwitterionenchromatographie (engl. *Zwitterionic Ion Chromatography*, ZIC) bezeichnet<sup>[11][12]</sup>. Werden solche zwitterionischen Materialien für HILIC-Trennungen eingesetzt, kann daher von ZIC-HILIC gesprochen werden<sup>[13][14]</sup>. Hierbei werden sowohl elektrostatische Wechselwirkungen als auch die Verteilung zwischen mobiler und stationärer Phase für die Trennung polarer, geladener oder ungeladener Analyten genutzt.

Der erste zwitterionische Austauscher, der sowohl quartäre Ammonium- als auch Sulfonsäuregruppen trug, wurde bereits im Jahre 1951 von *Stach* entwickelt<sup>[15]</sup>. Später wurden häufig kovalent an Silikagel gebundene  $\alpha$ -Aminosäuren<sup>[16][17]</sup> sowie mit zwitterionischen Tensiden dynamisch belegte C18-Materialien<sup>[18][19]</sup> eingesetzt. Diese stationären Phasen zeigen jedoch diverse Nachteile. So ist die Ladung von Aminosäuren pH-abhängig<sup>[13]</sup>, dynamisch belegte Materialien unterliegen einem ständigen „Bluten“ der Tenside. Erst 1986 gelang es *Hartwick et al.* erstmals, Sulfobetaine kovalent an Grundmaterialien anzubinden<sup>[20]</sup>. Weitere Erfolge konnten Ende der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts erzielt werden, aus denen letztlich auch die kommerziell erhältlichen Austauschermaterialien ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC (Sequant/Merck, Darmstadt, Deutschland) entstanden sind<sup>[21]</sup>. Diese beiden stationären Phasen tragen funktionelle Gruppen mit nahe am Grundpartikel befindlichem quartärem Amin und einer Sulfonsäure im Abstand von drei Methylengruppen vom Amin. Diese Art zwitterionischer Austauscher wird als Sulfobetaineaustauscher bezeichnet.

Erst mit diesen Materialien ist der routinemäßige Einsatz der ZIC-HILIC als Trennprinzip möglich geworden. Dennoch gestaltet sich die kovalente Anbindung dauerhaft geladener zwitterionischer Gruppen an Kieselgel oder polymere Grundmaterialien immer noch schwierig<sup>[22]</sup>.

Unter anderem aus diesem Grund beschränkt sich der enorme wissenschaftliche Fortschritt auf dem Gebiet der ZIC-HILIC innerhalb der letzten Jahre vor allem auf die Entwicklung neuer Applikationen – also auf die reine Anwendung kommerziell erhältlicher Materialien. Doch auf mechanistischer Seite und bezogen auf die Grundlagen der Methode besteht ebenfalls noch Forschungsbedarf.

Betrachtet man nun zwitterionische Sulfobetaineaustauscher, ist ein entscheidender Einfluss auf die Trennfähigkeit mit Sicherheit im Abstand zwischen den beiden Ladungen zu suchen. Erste Ansätze zur Untersuchung dieses Einflusses wurden bereits anhand von dynamisch belegten Austauschern auf C18-Basis getätigt<sup>[23][22]</sup>. Dabei wurden jedoch lediglich Materialien mit vier, respektive elf  $\text{CH}_2$ -Gruppen zwischen den Ladungen untersucht. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, in einem engeren Rahmen die chromatographischen Eigenschaften kovalent angebundener zwitterionischer Sulfobetaineaustauscher in Abhängigkeit der Abstände der Ladungen zueinander zu untersuchen.



So sollte der Abstand zwischen den Ladungen – besonders bezogen auf kurze Entfernungen – einen entscheidenden Einfluss auf Faktoren wie die Polarität der Austauschermaterialien sowie die Fähigkeit, die Ladungen intern abzusättigen, haben.

Um diese Einflüsse zu ermitteln, werden Austauscher mit Abständen von einer CH<sub>2</sub>-Gruppe bis hin zu fünf CH<sub>2</sub>-Gruppen zwischen den beiden Ladungen hergestellt und auf ihre Trenneigenschaften hin untersucht. Entscheidend bei der Synthese dieser Verbindungen ist das Ziel, letztlich stationäre Phasen zu generieren, die sich ausschließlich im Abstand zwischen den Ladungen unterscheiden. Ansonsten sollten die Materialien absolut identisch sein, um keine Artefakte anderer Effekte zu beobachten. Um dies zu gewährleisten, müssen Faktoren wie das verwendete Grundmaterial, die Anbindungsreaktion der zwitterionischen Gruppen an dieses Grundmaterial, die Art der eingesetzten Spacer (Abstandshalter zwischen Grundpolymer und funktionellen Gruppen) und die Kapazitäten der unterschiedlichen Austauscher gleich gehalten werden.

Hierzu wird in monomerer Form ein Satz an Molekülen erzeugt, der sich lediglich in den Abständen zwischen den quartären Aminen und den Sulfonsäuregruppen unterscheidet. Da diese Moleküle noch nicht an Polymerpartikel angebunden sind, sind gründliche spektroskopische Untersuchungen und damit einhergehend sichere Strukturaufklärungen und Reinheitsuntersuchungen möglich. Im Anschluss werden die erzeugten Monomere mithilfe einer – für alle Moleküle gleich durchgeführten – Pfropfpolymerisation an Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymerpartikel einer Charge angebunden. Des Weiteren können über die eingesetzten Mengen an zwitterionischen Monomeren in den Pfropfreaktionen die Kapazitäten der Austauschermaterialien so eingestellt werden, dass eine Vergleichbarkeit gegeben ist.

Um die Kapazitäten zwitterionischer stationärer Phasen reproduzierbar bestimmen zu können, muss zudem eine neue Methode entwickelt werden. Aus der Ionenchromatographie (engl. *Ion Chromatography*, IC) bekannte klassische Methoden, die Austauscherkapazitäten mittels dynamischer Beladung der gepackten Trennsäulen zu bestimmen, versagen für zwitterionische Austauscher. Die besonderen chromatographischen Eigenschaften dieser Materialien verhindern den Prozess der Beladung mit einer Ionensorte und anschließender Verdrängung mit einer anderen Ionensorte. Aus diesem Grund werden elementspezifische Untersuchungen an getrockneten, funktionalisierten Polymerpartikeln durchgeführt und miteinander verglichen.

Bezüglich der chromatographischen Charakterisierung der hergestellten Materialien spielt neben dem Mechanismus der ZIC-HILIC die ZIC eine wichtige Rolle. Die ZIC, also die Trennung von Analyten mittels rein wässriger Eluenten, hat sich im Rahmen der Untersuchung zwitterionischer Austauschermaterialien etabliert. Besonders von *Hu et al.* wurden auf diesem Gebiet eine Vielzahl von Untersuchungen an dynamisch belegten Austauschermaterialien durchgeführt<sup>[24][25][26][27]</sup>. So konnte letztlich auch ein Mechanismus für die ZIC-Trennungen postuliert werden<sup>[28]</sup>.

Im Rahmen dieser Arbeit werden die Trenneigenschaften der dargestellten Austauschermaterialien sowohl unter rein wässrigen Bedingungen als auch bei fließendem Übergang hin zu ZIC-HILIC-Bedingungen untersucht. Besonderes Augenmerk wird auf die Abhängigkeit des Trennvermögens und der Trennleistungen vom Abstand zwischen den Ladungen gelegt. Als Analyten kommen anorganische Anionen, Aminosäuren, Carbonsäuren und pharmakologische Wirkstoffe zum Einsatz. Das Studium der Veränderung der Retentionsfaktoren dieser Analyten in Abhängigkeit der Elutionenstärke, des pH-Wertes sowie der Elutionenspezies sind Gegenstand dieser Arbeit.

Neben dem Vergleich der hergestellten stationären Phasen untereinander wird auch ein Vergleich zu kommerziell erhältlichen Trennsäulen angestellt. Hierzu werden die zuvor genannten Austauscher ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC herangezogen. Diese weisen die gleichen funktionellen Gruppen wie das hergestellte Material mit drei CH<sub>2</sub>-Gruppen zwischen den Ladungen auf. Die Art der Funktionalisierung sowie die verwendeten Grundmaterialien sind jedoch unterschiedlich. Bei der ZIC-HILIC-Phase handelt es sich um einen kieselgelbasierten Austauscher, die ZIC-pHILIC-Phase besitzt 2-Hydroxyethylmethacrylat (HEMA) basierte Grundpartikel. Aufgrund der unterschiedlichen Grundmaterialeigenschaften im Vergleich zu Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymeren sollten sich diese kommerziellen Austauscher – bezüglich der Hydrophilie/Hydrophobie der Trägermaterialien – deutlich anders verhalten. Auch diese Einflüsse auf ZIC und ZIC-HILIC-Trennungen werden untersucht.

Durch die Variation der Messbedingungen, die gewählten Analyten und die Untersuchung der Austauschermaterialien mit unterschiedlichen Abständen zwischen den geladenen Gruppen ist eine weitgehende Betrachtung der Mechanismen möglich, die den ZIC- sowie ZIC-HILIC-Trennungen zugrunde liegen. Zudem können durch die Möglichkeit der Variation der Ladungsabstände weiterführende Informationen bezüglich der Optimierung bestimmter Trennprobleme gesammelt werden.

## 2 Grundlagen der Chromatographie

Unter Chromatographie versteht man physikalisch-chemische Verfahren zur Trennung von Substanzgemischen. Sie ermöglichen die Trennung von Stoffen, die sich in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften nur wenig voneinander unterscheiden und sich zudem in komplexen Matrices befinden können<sup>[29][30]</sup>. Die Trennung erfolgt durch wiederholte Verteilung der Substanzen zwischen zwei Phasen, von denen eine stationär, die andere mobil ist. Aufgrund unterschiedlicher Affinitäten der verschiedenen Analyten zu den beiden Phasen kann eine Auftrennung erreicht werden.

Entdeckt wurde die Chromatographie durch den russischen Botaniker *Tswett*<sup>[31][32]</sup>, der am 8. März 1903 im Rahmen des Treffens der Biologischen Abteilung der Warschauer Gesellschaft für Naturwissenschaften<sup>[33]</sup> erstmals die Trennung verschiedener Chlorophylle und Xanthophylle aus Pflanzenextrakten vorgestellt hat. Die getrennten Blattfarbstoffe erschienen auf der Trennsäule als farbige Banden, was der Chromatographie ihren Namen verliehen hat (griech. *chroma* = Farbe, griech. *graphein* = schreiben). In den folgenden Jahren wurde die Chromatographie vor allem in der Biochemie als leistungsfähige Möglichkeit zur Trennung komplexer Stoffgemische weiterentwickelt<sup>[34]</sup>. Dabei entstanden eine Vielzahl unterschiedlicher Methoden, die z. B. nach ihrer Ausführungsform in säulenchromatographische und planarchromatographische Verfahren unterteilt werden können.

Als weiteres Einteilungskriterium chromatographischer Verfahren können die Art und der Aggregatzustand der mobilen und stationären Phase herangezogen werden. In Bezug auf die mobile Phase existieren drei Ausführungsformen:

- Gaschromatographie (engl. *Gas Chromatography*, GC)
- Flüssigkeitschromatographie (engl. *Liquid Chromatography*, LC)
- Überkritische Flüssigkeitschromatographie (engl. *Supercritical Fluid Chromatography*, SFC)

Je nach Aggregatzustand der stationäre Phase und nach den vorrangig auftretenden Trennmechanismen können weitere Unterteilungen durchgeführt werden<sup>[34]</sup>.

Eine der heute wichtigsten Methoden der analytischen Chemie stellt die Flüssigkeitschromatographie und im Speziellen die Hochleistungsflüssigkeitschromatographie dar.

## 2.1 Chromatographische Kenngrößen

Zur Beschreibung chromatographischer Prozesse und zur Beurteilung der Qualität chromatographischer Methoden sind einige chromatographische Kenngrößen von Bedeutung<sup>[35]</sup>. Da im Rahmen dieser Arbeit eine säulenchromatographische Methode aus dem Gebiet der Flüssigkeitschromatographie eingesetzt wird, beschränken sich die Ausführungen auf Größen, die für diese Verfahren wichtig sind.

### 2.1.1 Retentionsparameter

Bei chromatographischen Verfahren kommt es aufgrund von Wechselwirkungen der zu untersuchenden Substanzen mit der stationären Phase zur Retention, d. h. die Substanzen werden gegenüber dem Eluentfluss zurückgehalten. Bringt man einen Analyten A in einen chromatographischen Prozess ein, stellt sich zwischen mobiler und stationärer Phase ein dynamisches Verteilungsgleichgewicht ein.



Eine Trennung von Stoffgemischen kann erfolgen, wenn das Verteilungsgleichgewicht zweier Analyten hinreichend verschieden ist. Das Verhältnis der Analytkonzentrationen zwischen mobiler Phase ( $c_M$ ) und stationärer Phase ( $c_S$ ) ist als Verteilungskoeffizient  $K_c$  definiert<sup>[34]</sup>.

$$K_c = \frac{c_S}{c_M} \quad (2.2)$$

Die Trennung zweier Analyten mit hinreichend verschiedenen Verteilungsgleichgewichten führt im Rahmen eines chromatographischen Prozesses zu dem in Abbildung 2.1 dargestellten Chromatogramm. Ein Chromatogramm entspricht der Auftragung eines Detektorsignals gegen die Zeit und liefert sowohl qualitative als auch quantitative Informationen über die Analyten.

Zur qualitativen Identifikation der Analyten dient die Retentionszeit, quantitative Aussagen sind über die Signalintensität möglich. Die Bruttoretentionszeit  $t_R$  entspricht im Chromatogramm dem Abszissenabschnitt vom Nullpunkt bis zum Maximum eines Signals. Bezogen auf den chromatographischen Prozess entspricht dies genau der Zeit, die eine Substanz von der Injektion bis zum Detektor benötigt hat. Die Bruttoretentionszeit  $t_R$  setzt sich additiv aus der Aufenthaltszeit des Analyten auf der Trennstrecke bzw. der stationären Phase (Nettoretentionszeit  $t_S$ ) und seiner Aufenthaltszeit in der mobilen Phase zusammen. Die Aufenthaltszeit des Analyten in der mobilen Phase entspricht grundsätzlich der Zeit, die die reine mobile Phase für das Durchfließen

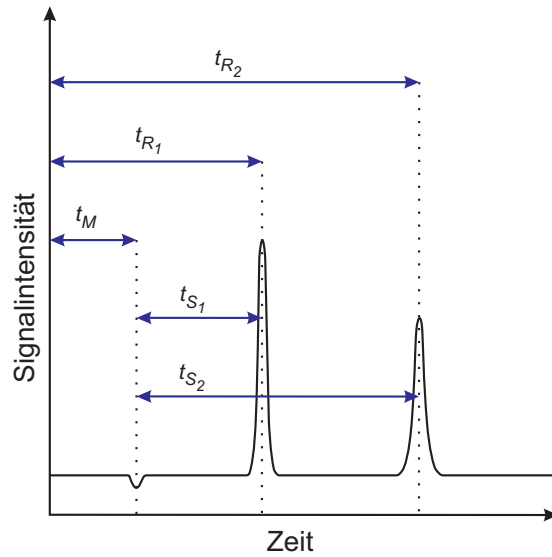


Abbildung 2.1: Idealisiertes Chromatogramm der Trennung zweier Substanzen<sup>[36]</sup>.

des Trennsystems vom Injektionsventil bis zum Detektor benötigt. Diese Zeit wird als Totzeit  $t_M$  bezeichnet. Für  $t_R$  ergibt sich somit:

$$t_R = t_S + t_M \quad (2.3)$$

Da die Retentionszeit und damit die Verweildauer des Analyten auf der stationären Phase stark von den chromatographischen Eigenschaften des Systems abhängt, bietet sich die Einführung des Retentionsfaktors  $k'$  an. Der Retentionsfaktor lässt qualitative Aussagen über die Retentionszeiten eines Analyten bei verschiedenen chromatographischen Systemen zu.  $k'$  ist eine dimensionslose Größe, die angibt, um welchen Faktor sich der Analyt länger in der stationären Phase als in der mobilen Phase aufhält. Der Retentionsfaktor ergibt sich somit aus dem Verhältnis von Nettoretentionszeit  $t_S$  und Totzeit  $t_M$ . Mathematisch betrachtet ist  $k'$  definiert als Produkt aus dem Verteilungskoeffizienten  $K$  und dem Volumenverhältnis aus stationärer Phase  $V_S$  und mobiler Phase  $V_M$ . Anstelle des Volumens der stationären Phase kann auch deren Masse  $m_S$  verwendet werden.

$$k' = \frac{t_S}{t_M} = K \cdot \frac{V_S}{V_M} = K \cdot \frac{m_S}{V_M} \quad (2.4)$$

Kleine Werte für  $k'$  entsprechen einer Retentionszeit nahe am Totvolumen, während große Werte eine starke Retention des Analyten bedeuten.

Ähnlich wie der Retentionsfaktor ein Maß für die relative Retention eines Analyten bezogen auf die Totzeit  $t_M$  ist, kann auch ein Selektivitätsfaktor  $\alpha$  eingeführt werden. Dieser ist ein Maß für

die relative Retention zweier Stoffe zueinander. Definiert ist  $\alpha$  als Verhältnis zweier Retentionsfaktoren, wobei grundsätzlich die zuerst eluierende Substanz in den Nenner gesetzt wird.

$$\alpha = \frac{t_{S_2}}{t_{S_1}} = \frac{k'_2}{k'_1} \quad \text{mit} \quad k'_2 > k'_1 \quad (2.5)$$

Der Selektivitätsfaktor  $\alpha$  ist somit für coeluierende Substanzen gleich eins. Aussagen über die Qualität einer chromatographischen Trennung lassen sich anhand des Selektivitätsfaktors jedoch nicht treffen. Denn wie bereits in Abbildung 2.1 gezeigt, handelt es sich bei den detektierten Signalen nicht um unendlich schmale Banden, sondern um gaußförmig verbreiterte Kurven (engl. *Peaks*).

### 2.1.2 Parameter zur Beschreibung der Qualität einer Trennung

Die Verbreiterung der Signale zu den in Abbildung 2.2 dargestellten, gaußförmigen Kurvenverläufen, rührt von Unregelmäßigkeiten in der Gleichgewichtseinstellung zwischen mobiler und stationärer Phase sowie von Kanalbildung und Diffusionsprozessen her und nimmt mit steigender Retentionszeit zu<sup>[37]</sup>. Aus der Form dieser Kurven sowie aus den Retentionszeiten verschiedener Analyten können Informationen über die Qualität einer Trennung gewonnen werden.

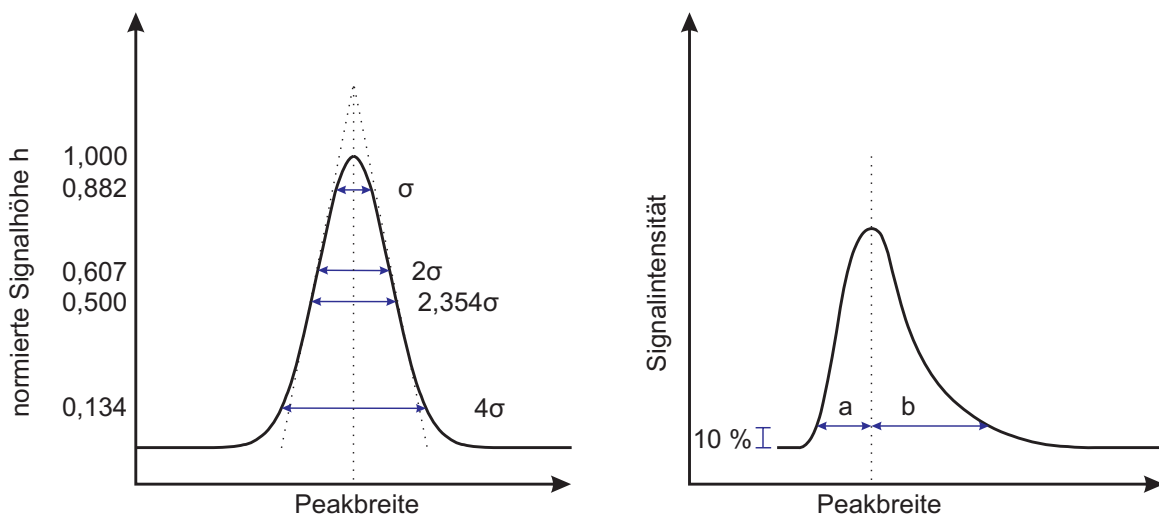


Abbildung 2.2: *Gauß*-Verteilung mit charakteristischen Kenngrößen und Definition des Asymmetriefaktors<sup>[36]</sup>.

Eine erste qualitative Größe bezieht sich ausschließlich auf die Peakform und berücksichtigt noch nicht die Qualität der Trennung zweier Analyten. Bei dieser Größe handelt es sich um den Asymmetriefaktor  $T$ . Dieser beschreibt, inwiefern die Peakform vom idealen Verhalten einer *Gauß*-Funktion abweicht. Entscheidend für die Beurteilung dieser Abweichung sind die in Abbildung 2.2 im rechten Bild dargestellten Strecken  $a$  und  $b$ . Dabei handelt es sich um die

Streckenlängen, die auf 10% der Peakhöhe von einem durch das Peakmaximum gefällten Lot bis zur vorderen bzw. hinteren Signalflanke reichen. Für den Asymmetriefaktor gilt:

$$T = \frac{b}{a} \quad (2.6)$$

Ist der Asymmetriefaktor  $T > 1$ , so entspricht dies dem abgebildeten Fall und man spricht von *Tailing*. Für den Fall, dass  $T < 1$  ist, handelt es sich um einen Peak mit *Fronting*. Während *Tailing* meist durch Adsorptionseffekte hervorgerufen wird, lassen sich *Fronting*-Effekte durch eine Überladung der Trennsäule erklären. In einem solchen Fall übersteigt die Analytkonzentration die Kapazität der Trennsäule, so dass nicht alle Analytmoleküle Wechselwirkungen mit der stationären Phase eingehen können, da diese vollständig blockiert ist.

Neben dem Asymmetriefaktor ist die Auflösung einer chromatographischen Trennung das wichtigste Merkmal für die Beurteilung der Qualität der Trennung. Im Gegensatz zum Selektivitätsfaktor  $\alpha$  berücksichtigt die Auflösung  $R_s$  (engl. *Resolution*) nicht nur den relativen Abstand zweier Peaks zueinander, sondern auch die Peakbreiten der beiden Signale.

$$R_s = \frac{t_{R2} - t_{R1}}{\frac{w_{b1} + w_{b2}}{2}} = \frac{2 \cdot \Delta t_R}{w_{b1} + w_{b2}} = 1,18 \cdot \frac{t_{R2} - t_{R1}}{w_{h1} + w_{h2}} \quad (2.7)$$

Die Auflösung beschreibt also das Verhältnis aus dem doppelten Abstand zweier Peaks und der Differenz der Basisbreiten. Neben der Basisbreite  $w_b$  hat sich der Bezug auf die Halbwertsbreite  $w_h$  (Peakbreite bei halber Peakhöhe) durchgesetzt. Die Halbwertsbreite entspricht gerade der 2,354fachen Varianz von  $\sigma$  der Verteilung. Ist nun der Abstand zweier Signale größer als die Halbwertsbreiten  $w_h$ , ist die Auflösung der Trennung gut. Bei benachbarten symmetrischen Peaks gleicher Höhe bedeutet eine Auflösung von 0,6 eine Überlappung der Peakflächen von 12%, d. h. die Signale sind zwar getrennt, aber nicht quantitativ auswertbar. Dies ist erst ab einer Auflösung von  $R_s = 1,0$  der Fall, denn dann beträgt die Überlappung lediglich ca. 2%. Eine Basislinientrennung liegt bei einer Auflösung von 1,5 vor. In der Praxis werden als Kompromiss zwischen Trennqualität und Analysendauer Auflösungen von  $R_s = 1,2$  bis 1,5 angestrebt<sup>[34]</sup>.

## 2.2 Theoretische Konzepte der Chromatographie

Während die bislang genannten Kenngrößen sich auf die Benennung und Beurteilung chromatographischer Messungen beziehen, haben *Martin* und *Synge* Anfang der 40er Jahre des letzten Jahrhunderts die ersten theoretischen Arbeiten zum Verständnis chromatographischer Prozesse veröffentlicht<sup>[38]</sup>.

### 2.2.1 Modell der theoretischen Trennböden

Im Rahmen dieser Arbeit konnte mit der sogenannten Bodentheorie ein erstes Konzept vorgestellt werden, das eine Beziehung zwischen Bandenverbreiterung und der Analytbewegung herstellt. Die Verbreiterung der Analytsignale durch Diffusions- und Strömungsvorgänge hat einen entscheidenden Einfluss auf die Effizienz einer Trennung. Wenn die Bandenverbreiterung minimal wird, lassen sich die besten Trennungen erreichen<sup>[36]</sup>.

Das Modell der theoretischen Trennböden überträgt die Konzepte zur Beschreibung der fraktionierten Destillation auf die Chromatographie<sup>[39]</sup>. Dabei wird eine Trennsäule als Aneinanderreihung zahlreicher diskreter, schmaler Lagen aufgefasst. Jede dieser Lagen entspricht einem theoretischen Boden. Es wird angenommen, dass sich auf jedem dieser theoretischen Böden ein Gleichgewicht der Analyten zwischen mobiler und stationärer Phase einstellt<sup>[40]</sup>. Die Anzahl der theoretischen Böden, also die Bodenzahl  $N$  kann dann als Maß für die Bandenverbreiterung betrachtet werden<sup>[41]</sup>.

$$N = 16 \cdot \left( \frac{t_R}{w_b} \right)^2 = 5,54 \cdot \left( \frac{t_R}{w_h} \right)^2 = \left( \frac{t_R}{\sigma} \right)^2 \quad (2.8)$$

Die Bodenzahl kann aus chromatographischen Messungen über die Bruttoretentionszeit und die Basis- bzw. Halbwertsbreite bestimmt werden. Die Effizienz einer Trennung steigt mit der Anzahl der Trennstufen. Neben der Bodenzahl  $N$  kann auch die Trennstufenhöhe HETP (engl. *Height Equivalent to a Theoretical Plate*) zur Beschreibung der Effizienz einer Trennung und damit der Trennleistung herangezogen werden. Die Trennstufenhöhe ergibt sich aus der Bodenzahl unter Einbeziehung der Länge  $L$  der Trennstrecke bzw. Trennsäule.

$$\text{HETP} = \frac{L}{N} = \frac{\sigma^2}{L} = \frac{L}{5,54} \cdot \left( \frac{w_h}{t_R} \right)^2 = \frac{L}{16} \cdot \left( \frac{w_b}{t_R} \right)^2 \quad (2.9)$$

Aus den erhaltenen Chromatogrammen einer Trennung lässt sich die Trennstufenhöhe unter Einbeziehung der Basis- oder Halbwertsbreite und der Bruttoretentionszeit ermitteln. Das Konzept der theoretischen Trennstufen erklärt das Auftreten einer gaußförmigen Signalförmigkeit. Es wird nämlich angenommen, dass Strömungs- und Diffusionsprozesse in einer endlich schnellen und unvollständigen Gleichgewichtseinstellung zwischen mobiler und stationärer Phase erfolgen, wodurch sich ein anfangs schmales Signal mit zunehmender Aufenthaltszeit auf der stationären Phase verbreitert<sup>[37]</sup>.



### 2.2.2 Kinetische Theorie

Die Modell der theoretischen Trennböden erklärt zwar grundsätzlich das Auftreten gaußförmiger Signale, vernachlässigt aber den Einfluss der Art und Qualität der stationären und mobilen Phase auf die Trennleistung. *Van Deemter*, *Zuiderweg* und *Klinkenberg*<sup>[42]</sup> haben aus diesem Grund eine Theorie entwickelt, welche Einflüsse wie z. B. die Flussrate oder den Partikeldurchmesser der stationären Phase berücksichtigt. Als Maß für die relative Bandenverbreiterung dient die Trennstufenhöhe, welche in Gleichung 2.10 den Bezug zwischen einzelnen Diffusionsparametern und der linearen Strömungsgeschwindigkeit  $u$  der mobilen Phase herstellt<sup>[41]</sup>.

$$\text{HETP} = A + \frac{B}{u} + C \cdot u \quad (2.10)$$

Der  $A$ -Term dieser Gleichung beschreibt die Streu- bzw. *Eddy*-Diffusion. Diese ist in Abbildung 2.3 unter a) dargestellt und entsteht durch unterschiedliche zurückgelegte Wegstrecken der mobilen Phase innerhalb der Trennsäule. Sie ist abhängig von der statistischen Unregelmäßigkeit in der stationären Phase und vom mittleren Teilchendurchmesser. Bei Variation der linearen Flussgeschwindigkeit der mobilen Phase bleibt dieser Term unberührt.

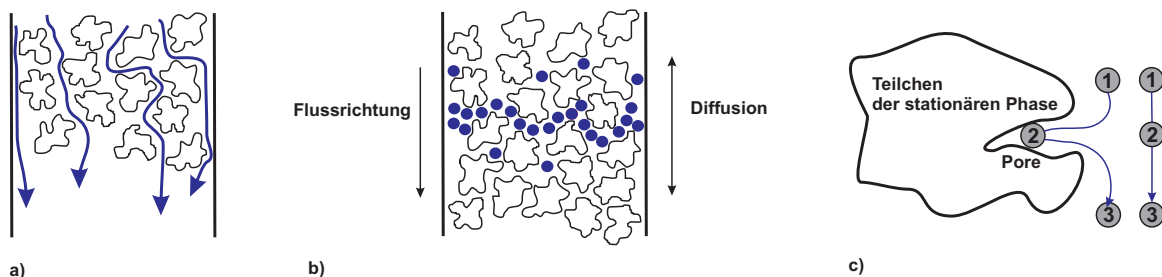


Abbildung 2.3: Schematische Darstellung der a) *Eddy*-Diffusion, b) Longitudinaldiffusion, c) Stoffaustauschverzögerung<sup>[36]</sup>.

Der  $B$ -Term hingegen beschreibt die Longitudinaldiffusion in Strömungsrichtung. Sie beruht auf der zufälligen Molekularbewegung der Analyten in der mobilen Phase (siehe b) in Abbildung 2.3). Die Longitudinaldiffusion hängt in erster Linie vom Diffusionskoeffizienten  $D_M$  des Analyten in der mobilen Phase ab und sinkt mit steigender Strömungsgeschwindigkeit der mobilen Phase. In der Flüssigkeitschromatographie kann dieser Beitrag zur Trennstufenhöhe aufgrund der geringen Diffusionskoeffizienten in kondensierter Phase meist vernachlässigt werden<sup>[34]</sup>.

Der  $C$ -Term aus Gleichung 2.10 wird als Massentransportterm bezeichnet, eine bildliche Darstellung des zugrundeliegenden Effekts ist in Abbildung 2.3 unter c) gezeigt. Letztlich rührt dieser Beitrag daher, dass der Massentransfer – also die Diffusion bis zum Ort der Wechselwirkung – nicht unendlich schnell vollzogen werden kann und somit eine vollständige Gleichgewichtseinstellung nicht möglich ist. Der  $C$ -Term trägt am stärksten zur Bandenverbreiterung bei und

steigt linear mit der Strömungsgeschwindigkeit  $u$  der mobilen Phase an. Er ist in erster Linie indirekt proportional zum Diffusionskoeffizienten  $D_S$  der Analyten in der stationären Phase.

Trägt man die Trennstufenhöhe gegen die Lineargeschwindigkeit  $u$  der mobilen Phase auf, ergibt sich das in Abbildung 2.4 dargestellte Bild. Die Trennstufenhöhe erreicht also mit steigendem  $u$  ein Minimum, d. h. an dieser Stelle ist die Bodenzahl maximal, die Trennung liefert die größte Effizienz.

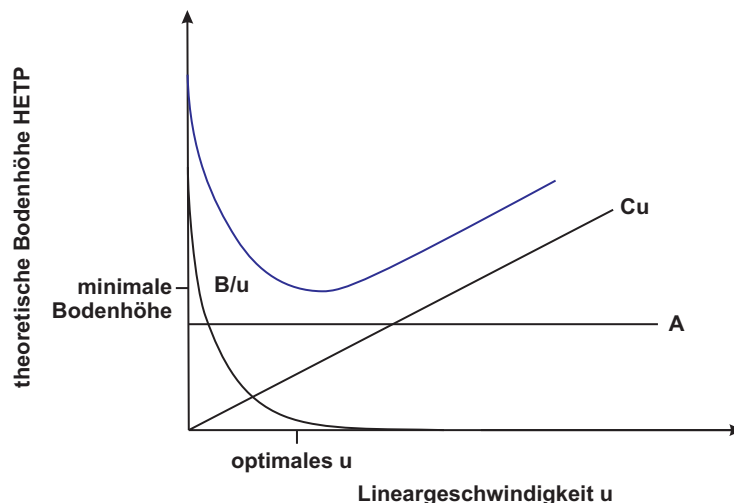


Abbildung 2.4: Beitrag der *Eddy*-Diffusion, der Longitudinaldiffusion und der Stoffaustauschverzögerung zum Kurvenverlauf der *Van-Deemter*-Funktion<sup>[34]</sup>.

## 2.3 Hochleistungsflüssigkeitschromatographie

Wie bereits erwähnt, stellt die HPLC eine der wichtigsten Methoden der analytischen Chemie dar. Dabei werden unter dem Oberbegriff HPLC verschiedene flüssigkeitschromatographische Methoden zusammengefasst. Eine Unterteilung der zu dieser Gruppe gehörigen Methoden kann nach Art der Wechselwirkungen erfolgen.

### 2.3.1 Trennprinzipien der HPLC

Die klassischen physikalisch-chemischen Wechselwirkungen zwischen Analyt und stationärer Phase, die als Trennprinzipien der HPLC angesehen werden, sind Verteilung und Adsorption. Auf weitere Prinzipien, wie z. B. den Größenausschluss, wird an dieser Stelle nicht eingegangen. Eine ausführliche Diskussion zum Trennprinzip über ionische Wechselwirkungen wird unter Punkt 2.4 geliefert, Mechanismen zur ZIC sowie ZIC-HILIC werden unter Punkt 2.5 behandelt.

Die Adsorptionschromatographie ist die ursprüngliche Form der Flüssigkeitschromatographie. Die Adsorption wird als vorherrschender Wechselwirkungsprozess in der Normalphasen-HPLC angesehen. Bei dieser Methode werden poröse anorganische Adsorbentien wie Kieselgel oder Aluminiumoxid als stationäre Phasen verwendet, die an ihrer Oberfläche polare Hydroxylgruppen besitzen. Als mobile Phase dienen unpolare Solvenzien wie Pentan oder Hexan, deren Polarität z. B. durch Zugabe von Tetrahydrofuran gesteigert werden kann. Bei dieser Methode kommt es zur Adsorption der Analytmoleküle an der Oberfläche der stationären Phase.

Im Gegensatz dazu liegt die vorherrschende Wechselwirkung der Umkehrphasen-HPLC (RP-HPLC) in der Verteilung der Analyten zwischen mobiler und stationärer Phase. Die RP-HPLC trägt ihren Namen, da die Polaritätsverhältnisse zwischen mobiler und stationärer Phase genau umgekehrt derer der NP-HPLC sind. Es werden unpolare stationäre Phasen verwendet, bei denen meist lange Kohlenwasserstoffketten an Kieselgel oder polymere Trägermaterialien gebunden sind. Als Laufmittel werden polare Lösungsmittel wie Wasser, Methanol oder Acetonitril verwendet. Die RP-HPLC ist die am häufigsten eingesetzte Methode der Flüssigkeitschromatographie.

### 2.3.2 Retentionsmodelle der RP-HPLC

Aufgrund der weiten Verbreitung der HPLC und insbesondere der RP-HPLC sind zur theoretischen Beschreibung der Trennmechanismen inzwischen eine Vielzahl von Konzepten entwickelt worden. Im Rahmen dieser Arbeit sind Konzepte von Bedeutung, welche die Abhängigkeit der Retention bzw. des Retentionsfaktors von der Zusammensetzung der stationären Phase beschreiben. Es wird also ein Konzept gesucht, dass den Retentionsfaktor als Funktion des Volumenanteils  $\varphi$  an organischem Modifier ausdrückt.

$$k' = f(\varphi) \quad (2.11)$$

In Bezug auf diese Funktion wurden bereits ausgedehnte Untersuchungen durchgeführt, die zu unterschiedlichen Ergebnissen führen<sup>[43]</sup>. Darunter sind u. a. logarithmische<sup>[44]</sup>, reziproke<sup>[45]</sup> sowie quadratisch<sup>[46]</sup> und linear exponentielle Modelle<sup>[46][47]</sup> zu finden. Diese sind in Gleichungen 2.12 bis 2.15 zusammengefasst.

$$\log k' = A + B\varphi + C \log (1 + D\varphi) \quad (2.12)$$

$$\frac{1}{k'} = A + B\varphi + C\varphi^2 \quad (2.13)$$

$$\log k' = A + B\varphi + C\varphi^2 \quad (2.14)$$

$$\log k' = A + B\varphi \quad (2.15)$$

Die Terme  $A$ ,  $B$  und  $C$  sind dabei jeweils zusammengefasste, teils analytenspezifische Konstanten. Besonders das von *Schoenemakers et al.* vorgestellte linear exponentielle Modell<sup>[46]</sup> bietet sich für die hier durchgeführten Betrachtungen an. In diesem Modell können die Terme  $A$  und  $B$  durch einfache, experimentell zugängliche Ausdrücke ersetzt werden.

$$\log k' = \log k'_w - S\varphi \quad (2.16)$$

Hierbei ist  $k'_w$  der Retentionsfaktor eines Analyten für die reine, schwächere Eluentkomponente – im Falle der RP-HPLC also 100% Wasser.  $\varphi$  ist die Volumenfraktion des stärkeren Eluenten, also der organischen Phase. Der Faktor  $S$  ist empirischer Natur und entspricht gerade der Steigung, wenn die Auftragung von  $\log k'$  gegen  $\varphi$  einer linearen Regression unterzogen wird.

Trägt man also bei Variation des Volumenanteils der stärkeren Laufmittelkomponente im niedrigen bis mittleren Bereich (für diesen Bereich liefert das Modell gute Übereinstimmungen)  $\log k'$  gegen  $\varphi$  auf, so erhält man einen linearen Zusammenhang. Die Steigung dieser Regression korreliert mit der Entropie der Wechselwirkung zwischen Analyt und stationärer Phase.

## 2.4 Ionenchromatographie

Neben den bereits angesprochenen Trennprinzipien der HPLC können auch ionische Wechselwirkungen für die Trennung entsprechender ionischer Verbindungen herangezogen werden. In diesem Fall spricht man von der Ionenchromatographie (engl. *Ion Chromatography*, IC)<sup>[48]</sup>.

Die Ionenchromatographie – als Ausführungsform der HPLC – stellt einen Oberbegriff für drei verschiedene chromatographische Trennverfahren, die wiederum auf unterschiedlichen Trennmechanismen beruhen, dar. Man unterscheidet zwischen Ionenaustausch-, Ionenpaar- und Ionenausschlusschromatographie. Im Rahmen dieser Arbeit ist besonders der Mechanismus der Ionenaustauschchromatographie, die 1975 von *Small, Stevens* und *Bauman*<sup>[49]</sup> vorgestellt wurde, von Interesse.

### 2.4.1 Trennmechanismus der Ionenaustauschchromatographie

In der Ionenaustauschchromatographie (engl. *Ion Exchange Chromatography*, IEC) werden die Analytationen durch Austauschprozesse an der stationären Phase aufgetrennt. Die IEC beruht auf einer stöchiometrisch verlaufenden chemischen Reaktion zwischen Ionen in der Lösung und einem üblicherweise festen Stoff, der funktionelle Gruppen trägt und Ionen aufgrund elektrostatischer Kräfte fixieren kann. Im Rahmen der Kationenaustauschchromatographie handelt es sich bei diesen funktionellen Gruppen in der Regel um Sulfonsäuregruppen, während für die Trennung von Anionen quartäre Ammoniumgruppen zum Einsatz kommen. Diese funktionellen Gruppen sind wiederum auf Trägermaterialien immobilisiert. Neben den ursprünglich verwendeten kieselgelbasierten Austauschermaterialien werden zunehmend polymere Grundmaterialien, z. B. aus Polystyrol/Divinylbenzol-Copolymer (PS/DVB), verwendet.

An den funktionellen Gruppen kommt es zur reversiblen Anlagerung von Ionen. Es stellen sich Gleichgewichte ein, deren Lage von der Affinität der einzelnen Ionen zu den funktionellen Gruppen der stationären Phase abhängt. Aus Elektroneutralitätsgründen befindet sich in der Nähe einer Bindungsstelle auch immer ein entgegengesetzt geladenes Gegenion. Der Eluent muss in der Ionenaustauschchromatographie immer einen Überschuss an Ionen (z. B.  $H^+$  oder  $Na^+$  in der Kationenaustauschchromatographie) enthalten, die als Gegenionen für die funktionellen Gruppen fungieren und im chromatographischen Prozess in Konkurrenz zu den Analytionen treten. Der schematische Ablauf eines Ionenaustauschprozesses ist in Abbildung 2.5 dargestellt.

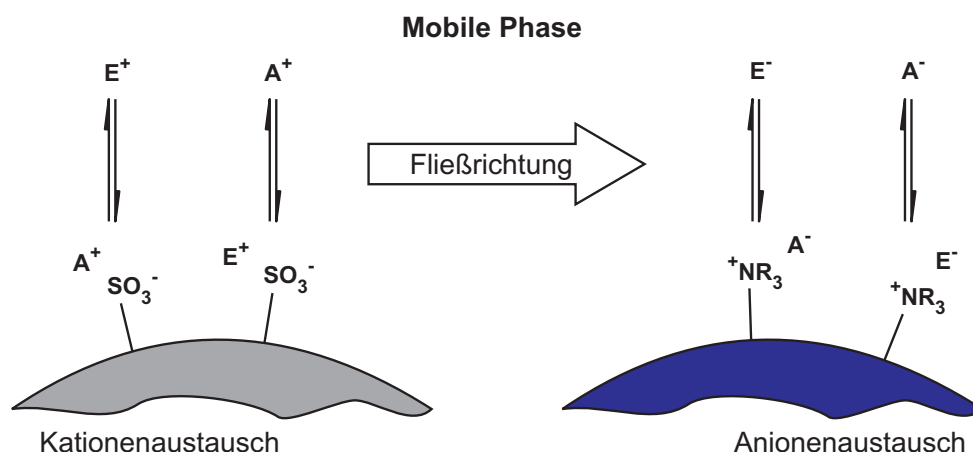
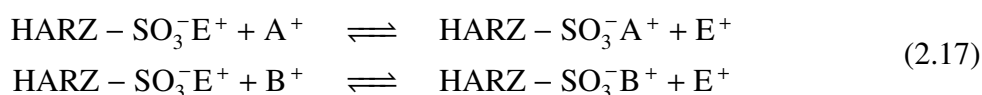


Abbildung 2.5: Schematische Darstellung des Ionenaustauschprozesses, E sind Elutionen, A Analytionen<sup>[50]</sup>.

In das System eingebrachte Analytionen verdrängen Elutionen – in Abhängigkeit von ihrer Affinität zur stationären Phase – mehr oder weniger stark von den Austauschergruppen der stationären Phase. Nach einer affinitätsbedingten Verweildauer werden die Analytionen ihrerseits von Elutionen verdrängt. Ein Überschuss an Elutionen ist hierbei zwingend erforderlich, da

stark bindende Analytione ansonsten evtl. nicht oder nur schwer wieder von den Austauscherguppen entfernt werden könnten.

Die Trennwirkung – bezogen auf zwei unterschiedliche Spezies von Analytionen – beruht auf unterschiedlich starken Wechselwirkungen zwischen den Analytionen und den funktionellen Gruppen der stationären Phase. Für zwei Analytionen  $A^+$  und  $B^+$  (im Rahmen der Kationenaustauschchromatographie) gelten die in Gleichung 2.17 dargestellten reversiblen Gleichgewichte.



Die zugrundeliegende thermodynamische Gleichgewichtskonstante für das Analytion  $A^+$  (analog für  $B^+$ ) wird als Selektivitätskoeffizient  $K$  bezeichnet.

$$K = \frac{c(\text{HARZ} - \text{SO}_3^- \text{A}^+) \cdot c(\text{E}^+)}{c(\text{HARZ} - \text{SO}_3^- \text{E}^+) \cdot c(\text{A}^+)} = \frac{c(\text{A}^+)_s \cdot c(\text{E}^+)_m}{c(\text{E}^+)_s \cdot c(\text{A}^+)_m} \quad (2.18)$$

In dieser Berechnung werden bewusst die Konzentrationen der Analyt- sowie Elutionen verwendet, obwohl tatsächlich die jeweiligen Aktivitäten ausschlaggebend sind. Die Berechnung der Aktivitäten in der Umgebung eines Ionenaustauschers ist jedoch kaum möglich. Zudem wird in der Ionenaustauschchromatographie bei den meisten Problemstellungen mit stark verdünnten Elektrolytlösungen gearbeitet. In diesen Fällen kann die Aktivität der Spezies über die Konzentration angenähert werden.

Liegen in einer Lösung mehrere Analytionen vor, so sind diese voneinander trennbar, wenn sie sich in ihrer Affinität zur stationären Phase hinreichend voneinander unterscheiden.

## 2.4.2 Trennmechanismen der Ionenpaarchromatographie

Neben dem Ionenaustausch gehört die Ionenpaarchromatographie (engl. *Ion Pair Chromatography*, IPC)<sup>[51]</sup> zum Oberbegriff der Ionenchromatographie. Dabei wird dem Eluenten ein Ionenpaarreagenz zugesetzt, welches mit den Analytionen ein Ionenpaar bildet. Als Ionenpaarreagenz werden anionische oder kationische Tenside eingesetzt, also Moleküle, die neben der ionischen Gruppe einen unpolaren organischen Rest tragen. Die gebildeten Ionenpaare erscheinen nach außen neutral. Sie lassen sich aufgrund ihrer Eigenschaften im Rahmen der klassischen RP-HPLC trennen. Dabei spielen unterschiedliche Ionenpaarbildungskonstanten sowie unterschiedliche Affinitäten der Ionenpaare zur stationären Phase eine Rolle. Die Trennung basiert somit auf mehreren Gleichgewichtseinstellungen.

### 2.4.3 Trennmechanismen der Ionenausschlusschromatographie

Das dritte Trennprinzip der Ionenchromatographie ist der Ionenausschluss (engl. *Ion Chromatography Exclusion*, ICE), der erstmals von *Wheaton* und *Bauman* erwähnt wurde<sup>[52]</sup>. Hauptsächlich wird diese Methode zur Trennung schwacher organischer und anorganischer Säuren sowie von Alkoholen, Aldehyden, Aminosäuren und Kohlenhydraten eingesetzt. Als Austauschermaterialien werden vollständig sulfonierte Kationenaustauscher (Anionenausschluss) oder aber aminierte Anionenaustauscher (Kationenausschluss) verwendet, als Eluenten starke Mineralsäure wie z. B. Salzsäure bzw. starke Basen (Natronlauge). Strömt – im Falle des Anionenausschlusses – ein wässriger Eluent an der stationären Phase vorbei, werden die Sulfonsäuregruppen von einer Hydrathülle umgeben und liegen teilweise dissoziiert vor. Daraus resultiert eine partiell negative Überschussladung an der Oberfläche der stationären Phase, die auch als *Donnan-Membran* bezeichnet wird (siehe Abbildung 2.6).

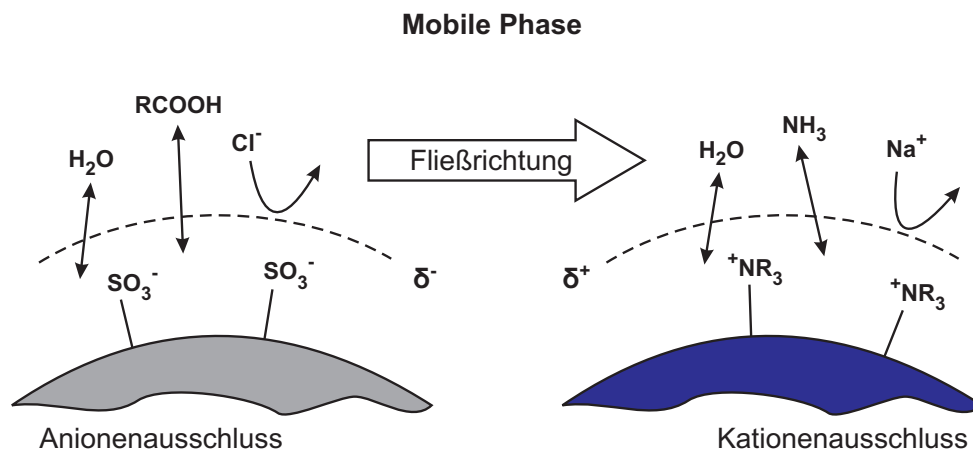


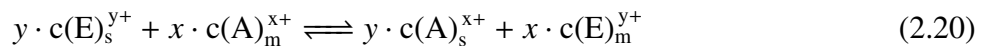
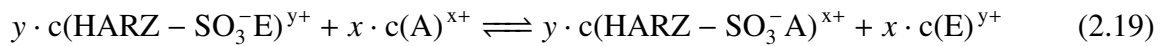
Abbildung 2.6: Schematische Darstellung des Ionenausschlussprozesses für saure Eluenten (links) sowie für basische Eluenten (rechts)<sup>[53][34]</sup>.

Diese Membran stellt – im Rahmen des Anionenausschlusses – eine Barriere für Anionen, d. h. auch für dissoziierte Säuren dar, während sie für Kationen und ungeladene Moleküle durchlässig ist. Vollständig dissoziierte Säuren können daher gar nicht in die Poren des Austauschermaterials eindringen und eluieren zuerst. Nicht dissoziierte Verbindungen können in das gesamte Porenvolumen eindringen und mit der unpolaren stationären Phase adsorptive Wechselwirkungen eingehen. Alle unter den gewählten Bedingungen teilweise dissoziierten Verbindungen werden entsprechend ihrer Dissoziationskonstanten und ihrer Affinität zur stationären Phase getrennt<sup>[53]</sup>. Analog verhält es sich – mit vertauschten Ladungen – beim Kationenausschluss.

### 2.4.4 Retentionsmodell der Ionenaustauschchromatographie

Im Rahmen dieser Arbeit ist neben der Zwitterionenchromatographie die Kationenaustauschchromatographie von Interesse. Ähnlich wie es bereits bei der HPLC beschrieben wurde (siehe Punkt 2.3.2), können auch hier Überlegungen bezüglich der zugrundeliegenden Trennmechanismen und deren theoretischer Beschreibung angestellt werden. Im Rahmen eines Retentionsmodells<sup>[53][54]</sup> für die Kationenaustauschchromatographie kann die Abhängigkeit der Retention eines Analytens  $A^{x+}$  von verschiedenen Faktoren diskutiert werden.

Ausgangspunkt für die folgenden Überlegungen ist das Gleichgewicht für das Analyt  $A^{x+}$  aus Gleichung 2.17. Bezieht man in dieser Gleichung die Ladung der Analyt- und Elutionen ein, erhält man folgende allgemeine Form:



Unter Näherung der Aktivitäten durch die Konzentrationen kann auch hier die thermodynamische Gleichgewichtskonstante  $K_{A,E}$  bestimmt werden.

$$K_{A,E} = \frac{c(A^{x+})_s^y + c(E^{y+})_m^x}{c(E^{y+})_s^y + c(A^{x+})_m^x} \quad (2.21)$$

Setzt man nun den Verteilungskoeffizienten  $K$  aus Gleichung 2.2 mit dem Retentionsfaktor  $k'$  aus Gleichung 2.4 in Bezug, erhält man für den Analyten  $A^{x+}$  folgenden Ausdruck:

$$\frac{c(A^{x+})_s}{c(A^{x+})_m} = k' \cdot \frac{m_s}{V_M} \quad (2.22)$$

Für  $K_{A,E}$  ergibt sich somit:

$$K_{A,E} = \left( k' \cdot \frac{V_M}{m_s} \right)^y \cdot \left( \frac{c(E^{y+})_m}{c(E^{y+})_s} \right)^x \quad (2.23)$$

Unter der Voraussetzung, dass die Elutionenkonzentration  $E^{y+}$  sehr viel größer ist als die Konzentration an Analyt  $A^{x+}$ , kann angenommen werden, dass in erster Näherung alle Austauscherplätze mit Elutionen besetzt sind. In diesem Fall kann die Konzentration an  $E^{y+}$  auf der stationären Phase über die Austauscherkapazität  $Q$  angenähert werden.

$$c(E^{y+})_s = \frac{Q}{y} \quad (2.24)$$



Für die thermodynamische Gleichgewichtskonstante ergibt sich damit:

$$K_{A,E} = \left( k' \cdot \frac{V_M}{m_S} \right)^y \cdot \left( \frac{Q}{y} \right)^{-x} \cdot c(E^{y+})_M^x \quad (2.25)$$

Da der Retentionsfaktor  $k'$  aus einer chromatographischen Messung leicht zugänglich ist, bietet sich die Umformung dieser Gleichung durch Auflösen nach  $k'$  an.

$$k' = \frac{m_S}{V_M} \cdot (K_{A,E})^{\frac{1}{y}} \cdot \left( \frac{Q}{y} \right)^{\frac{x}{y}} \cdot c(E^{y+})_M^{-\frac{x}{y}} \quad (2.26)$$

Gleichung 2.26 ist für die Ionenaustauschchromatographie besonders wichtig, da sie einen quantitativen Zusammenhang zwischen dem Retentionsfaktor  $k'$  und einigen experimentell zugänglichen Parametern ( $Q$ , Elutionenkonzentration) liefert. Für die Praxis hat sich das Arbeiten mit der logarithmierten Form dieser Gleichung durchgesetzt.

$$\log k' = \underbrace{\frac{1}{y} \log K_{A,E}}_A + \underbrace{\frac{x}{y} \log \frac{Q}{y}}_B + \underbrace{\log \frac{m_S}{V_M}}_C - \underbrace{\frac{x}{y} \log c(E^{y+})_M}_D \quad (2.27)$$

Für die Retention der Analytionen ergeben sich aus den einzelnen Termen dieser Gleichung folgende Zusammenhänge:

- Term A: große Gleichgewichtskonstante  $K_{A,E}$  erhöht  $k'$
- Term B: hohe Kapazitäten  $Q$  erhöhen  $k'$
- Term C: große Verhältnisse von  $m_S/V_M$  erhöhen  $k'$
- Term D: große Elutionenkonzentrationen  $c(E^{y+})_M$  erniedrigen  $k'$

Für höher geladene Analytionen  $A^{x+}$  ( $x > 1$ ) ergibt sich aus Gleichung 2.27 eine stärkere Retention als für einfach geladene Analytionen.

Verändert man in einem gegebenen chromatographischen System ausschließlich die Elutionenkonzentration, können alle Terme bis auf den D-Term zu einer Konstante  $C_1$  zusammengefasst werden und die Gleichung vereinfacht sich zu:

$$\underbrace{\log k'}_y = C_1 - \frac{x}{y} \underbrace{\log c(E^{y+})_M}_{x_1} \quad (2.28)$$

Diese Form der Gleichung entspricht genau einer Geradengleichung. Trägt man also die aus chromatographischen Messungen erhaltenen Werte für  $\log k'$  gegen den Logarithmus der Elutionenkonzentration auf, erhält man eine Gerade mit der Steigung  $-\frac{x}{y}$ . Es kann auf diese Weise experimentell die mittlere Ladung der Analytione bestimmt werden<sup>[50]</sup>.

## 2.5 Zwitterionenchromatographie/Hydrophile Interaktionschromatographie

Die wohl wichtigsten Trennprinzipien, die im Rahmen dieser Arbeit behandelt werden, sind die Zwitterionenchromatographie sowie die HILIC und ZIC-HILIC. Die ZIC-HILIC stellt dabei eine Kombination der klassischen HILIC mit zwitterionischen Einflüssen dar. Aus diesem Grund werden im weiteren Verlauf die einzelnen mechanistischen Überlegungen von rein wässrigen Bedingungen hin zu HILIC-Bedingungen (mindestens 60% Modifieranteil) entwickelt.

### 2.5.1 Retentionsmechanismen der ZIC

Zur Trennung von Substanzgemischen unter Verwendung zwitterionischer Grundmaterialien mit wässrigen Eluenten wurde eine Vielzahl von Untersuchungen angestellt. Vorreiter auf diesem Gebiet ist *Hu*, der bereits 1993 begann, die Effekte der Zwitterionenchromatographie mechanistisch zu untersuchen und zu erklären<sup>[24]</sup>. Für diese Untersuchungen wurden RP-HPLC-Materialien verwendet, die mit zwitterionischen Tensiden belegt wurden. Als Eluent wurde lange Zeit Reinstwasser eingesetzt<sup>[55][56][57][58]</sup>. Die Verwendung von Reinstwasser als Eluent gibt bereits erste Aufschlüsse darüber, dass die Zwitterionenchromatographie nicht als Ionenaustauschchromatographie mit zwei geladenen Gruppen angesehen werden kann.

Wäre dies der Fall, würden zwitterionenchromatographische Trennungen nach dem in Abbildung 2.7 dargestellten Schema verlaufen. Zwitterionische Austauscher müssten demnach – unabhängig von der geometrischen Anordnung der Ladungen (Typ A und Typ B) in der Lage sein, sowohl Anionen als auch Kationen zu trennen. Hierfür müssten jedoch analog der Ionenaustauschchromatographie im Eluenten höhere Konzentrationen an Elutionen vorhanden sein, um mit den Analytionen in Konkurrenz zu treten.

Da Trennungen jedoch offensichtlich unter Verwendung von Reinstwasser als Eluent durchgeführt werden können, müssen im Falle der zwitterionischen Austauscher noch weitere Faktoren an der Trennung beteiligt sein. Ein entscheidender Einfluss hierauf liegt in der Tatsache begründet, dass zwitterionische Austauscher aufgrund der geringen lokalen Abstände der gegenseitig geladenen Austauschergruppen inter- oder intramolekular Elektroneutralität erreichen können.

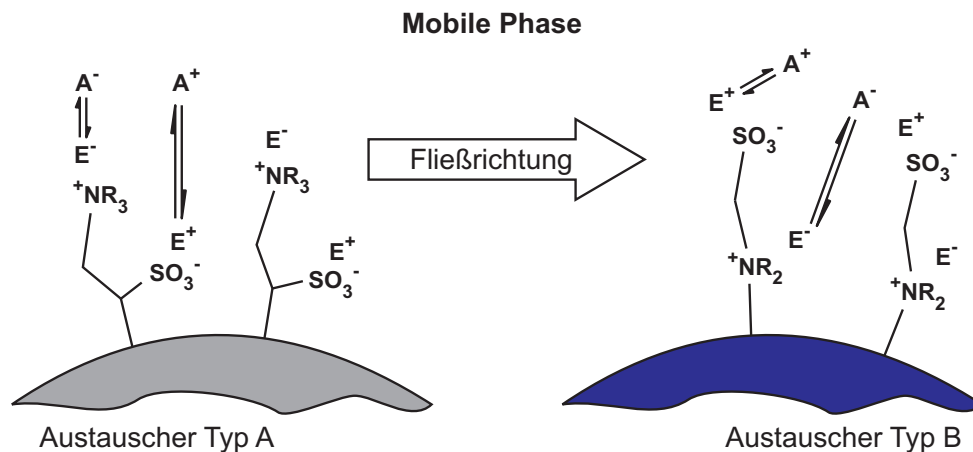


Abbildung 2.7: Schematische Darstellung denkbarer Austauschprozesse in der ZIC analog zur IEC, E sind Eluentionen, A Analytione.

Dies ist schematisch in Abbildung 2.8 gezeigt. Der Grund für die Notwendigkeit des Einsatzes von Eluentionen in der IC liegt gerade im Zwang der Elektroneutralität durch Ladungsausgleich mit gegenseitig geladenen Gruppen/Teilchen. In der IC kann ein Analyt die Austauschergruppe, an die es elektrostatisch angebunden ist, nicht von selbst verlassen. Elektrostatische Wechselwirkungen sind sehr stark und haben eine große Reichweite.

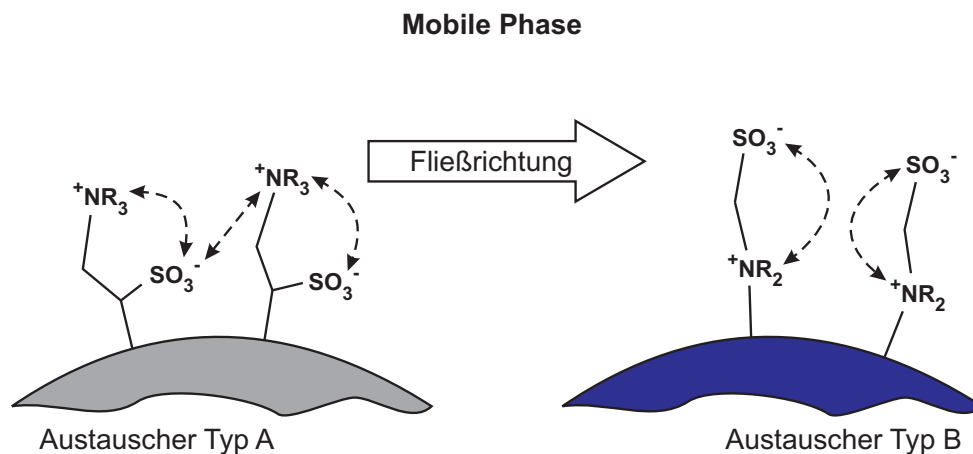


Abbildung 2.8: Schematische Darstellung vorstellbarer inter- oder aber intramolekularer Absättigungen der Ladungen.

In der Zwitterionenchromatographie trägt jede funktionelle Gruppe einen positiv und einen negativ geladenen Rest. Ist der Abstand der Ladungen und damit die Flexibilität der Austauschergruppe groß genug, kann es durch ein „Einfalten“ zum direkten Ladungsausgleich innerhalb einer Austauscherfunktion kommen. Zudem sind – bei ausreichend großer Nähe benachbarter Austauschergruppen zueinander – auch Ladungskompensationen durch das Zusammenspiel des quartärenamins einer Gruppe mit der Sulfonsäure einer Nachbargruppe denkbar. Ein an ein quartäres Amin gebundenes Analytanion kann somit – durch Einwirkung einer Sulfonsäuregrup-

pe – von der Austauscherfunktion verdrängt werden. Daher ist eine Elution mit Reinstwasser als Eluent und damit quasi eine simultane Trennung von Anionen und Kationen möglich<sup>[59]</sup>.

Neben der Tatsache, dass eine Einflussnahme über die Variation des Eluenten bei einem Reinstwassereluenten nicht möglich ist, ist zudem anzumerken, dass es lediglich zu einer Trennung von „Quasi-Ionenpaaren“ kommt. Jedes Anionen-/Kationen-Paar, welches im Analyten vorliegt, liefert somit ein Signal. Ein Analyt mit drei Anionen und drei Kationen wird demnach neun Peaks liefern, wobei sich die Signalintensitäten je nach Analytzusammensetzung verändern. Diese Tatsache sowie die Beobachtung, dass Austauscher mit innenliegendem Amin Anionen besser trennen als Kationen – und umgekehrt –, führte zu weiteren Untersuchungen unter Einsatz und Variation von Elutionen<sup>[18][60]</sup>.

Aus diesen Untersuchungen geht eine erste Theorie zur Beschreibung der chromatographischen Eigenschaften zwitterionischer Austauschermaterialien hervor. Nach *Hu* bildet sich unter Anwesenheit von Elutionen eine sogenannte binäre elektrische Doppelschicht (engl. *Binary Electrical Double Layer*, EDL) um die Austauscherfunktionen aus<sup>[28][61]</sup>. Diese ist schematisch in Abbildung 2.9 dargestellt.

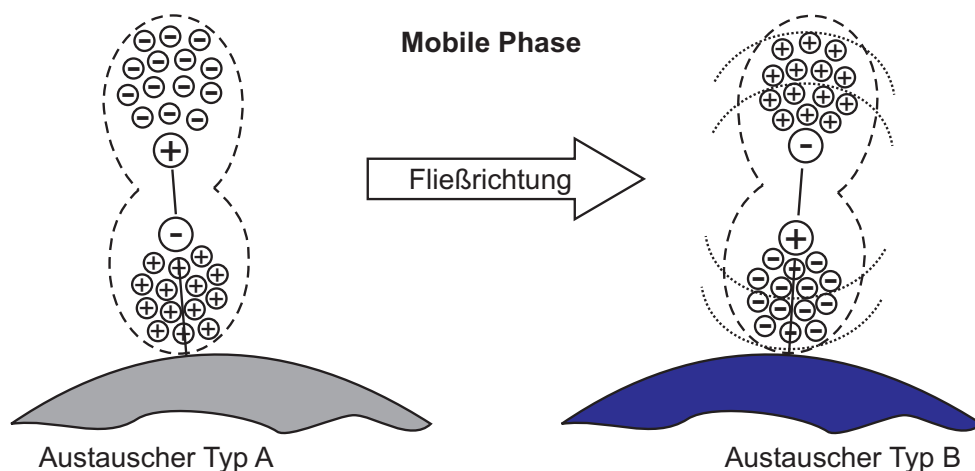


Abbildung 2.9: Von *Hu* vorgeschlagene binäre elektrische Doppelschicht (EDL)<sup>[28]</sup>.

Die EDL entspricht einer hantelförmigen Ladungswolke, die sich aufgrund der Ladungen der funktionellen Gruppen um die Austauscherfunktion anordnet. Dabei lagern sich im Falle des Typ B Austauschers die Eluantanionen auf der sulfonsäureabgewandten Seite um die Anionenaustauscherfunktion herum an. Eine analoge Anordnung der Kationen um die Sulfonsäuregruppe geschieht in zwei Schichten: einer unbeweglichen Stern-Schicht nahe an der Austauschergruppe (innerhalb der ersten gestrichelten Linie) sowie einer diffusen Schicht in weiterer Entfernung zur Sulfonsäure (zwischen den gestrichelten Linien). Die EDL erlaubt die Erklärung der Diskriminierung der Kationentrennung gegenüber der Anionentrennung auf Typ B Austauschern.

Während Anionen leicht durch die positiv geladene Schicht an Kationen hindurchdringen können, gelangen Kationen bestenfalls in die diffuse Schicht. Anionen, welche die Kationenschicht passiert haben, nähern sich der Anionenaustauscherfunktion durch den Bereich repulsiver Wechselwirkungen zwischen den Austauschergruppen an. In diesem Bereich ist die Ionendichte gering, weshalb die Anionen sehr dicht bis an das Amin herangelangen können und daher starke Wechselwirkungen eingehen. Dies führt zu starker Retention der Anionen. Kationen hingegen konkurrieren in der diffusen Schicht mit sehr vielen weiteren Kationen und erfahren daher nur wenig Wechselwirkung mit der Austauschergruppe.

Des Weiteren kann über diese Theorie die Elution von „Quasi-Ionenpaaren“ bei Trennungen mit Reinstwasser erklärt werden. Aufgrund der Elektroneutralität können immer nur stöchiometrische Mengen an Anionen und Kationen in die Region der Austauschergruppen eindringen. Ein stark retardiertes Anion „zieht“ daher ein – in Lösung als Gegenion fungierendes – Kation mit in die stationäre Phase. Es werden immer Ionenpaare getrennt. Durch den Zusatz von Elutionen wird der Prozess dahingehend verändert, dass ein großer Überschuss an Eluentanionen und -kationen vorliegt. So muss zwar immer noch ein „Quasi-Ionenpaar“ in die stationäre Phase eindringen, das stark retardierte Anion kann jedoch unabhängig vom Kation an die Austauschergruppe gebunden bleiben. Geht das Analytanion stärkere Wechselwirkungen mit der stationären Phase ein, als das Eluentanion, kann im Gegenzug ein Eluentanion zusammen mit dem vorherigen „Quasi-Ionenpaar“-Kation die stationäre Phase wieder verlassen. Die Retention der ohnehin schwach wechselwirkenden Kationen wird also noch weiter verringert, sie eluieren im oder nahe am Totvolumen. Die beobachtete Elutionsreihenfolge wird im Rahmen der EDL-Theorie über die Neigung der entsprechenden Ionen zur Ausbildung von Ionenpaaren erklärt<sup>[24]</sup>.

Beim Übergang vom Reinstwassereluenten zu Eluenten mit Elutionen muss sich die Doppelschicht jedoch zunächst ausbilden. Aus diesem Grund zeigen Auftragungen der Retentionsfaktoren  $k'$  gegen die Elutionenstärke den in Abbildung 2.10 dargestellten Verlauf. Bei geringer Elutionenstärke ist für alle untersuchten Analyten und alle untersuchten Elutionenspezies eine starke Veränderung der Retentionsfaktoren zu erkennen. Diese Änderungen nähern sich bei Konzentrationen von maximal 5 mmol/l asymptotisch einem Grenzwert an. Dies ist das typische Verhalten zwitterionischer Austauscher bei Variation der Elutionenstärke. Die Annäherung an einen Grenzwert geht mit der vollständigen Ausbildung der EDL einher. Solange die EDL nicht vollständig ausgebildet ist, verändert die Menge an angelagerten Elutionen das Austauschverhalten der funktionellen Gruppen. Ist die EDL vollständig ausgebildet, führt eine weitere Steigerung der Elutionenkonzentration zu keinen weiteren Veränderungen.

Nun besteht noch die Frage nach der Richtung der Änderung. Für einige Analyt-/Elutionen-Kombinationen (es werden nur die Eluentanionen geändert) kommt es zu einer Erhöhung der Retentionsfaktoren, für andere Paarungen zu einer Verringerung der  $k'$ -Werte. Besonders gut

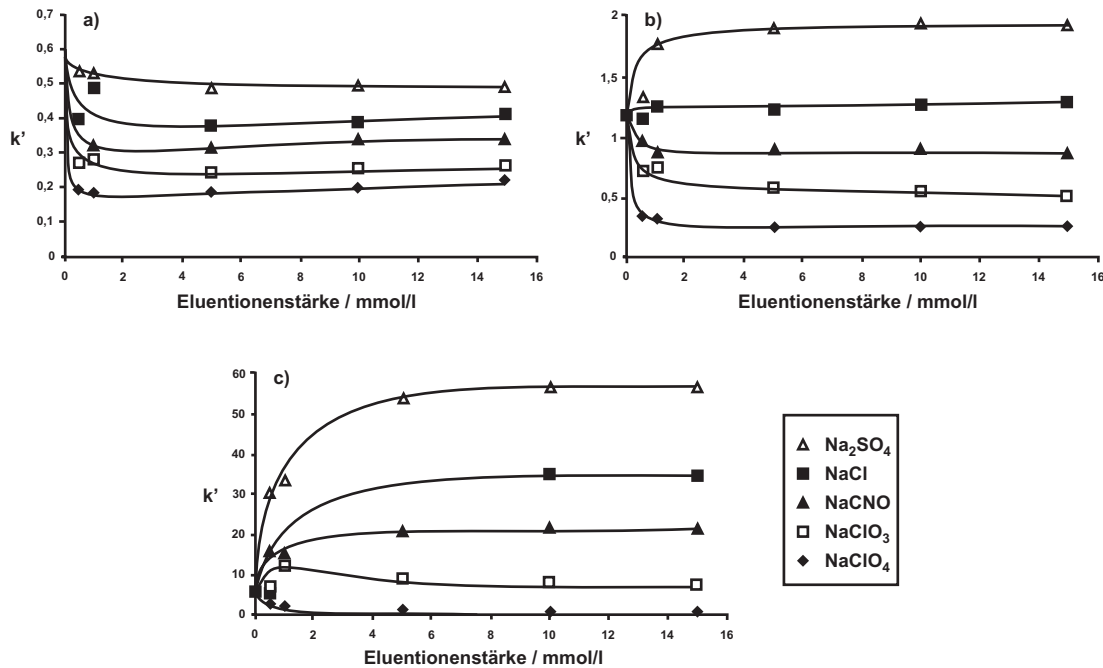
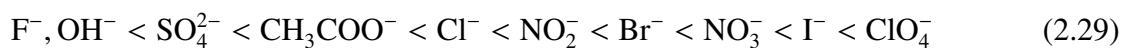


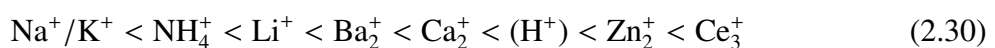
Abbildung 2.10: Trennung von Anionen mittels dynamisch belegter Austauscher unter Variation der Elutionenkonzentration mehrerer Elutionenspezies, a) Iodat, b) Nitrit und c) Iodid<sup>[11]</sup>.

ist dies für Nitrit zu erkennen, das mit einem Sulfat-Eluenten erhöhte Retentionszeiten zeigt, während z. B. Perchlorat-Eluenten zu einer Verringerung der Retentionszeiten führen.

Eine Erklärung für dieses Verhalten liefert die Theorie der EDL jedoch nicht. Hierzu sind erst die von *Cook et al.* vorgestellten Überlegungen zur Ausbildung von *Donnan*-Membranen in der Lage<sup>[11][12]</sup>. *Cook et al.* diskutieren über die abschirmenden Effekte, die einzelne Ionen auf die geladenen Gruppen der Austauscherfunktionen haben. Eine zentrale Erkenntnis dieser Theorie ist, dass die Elutionsreihenfolge in der ZIC gerade der chaotropen *Hofmeister*-Reihe folgt<sup>[62][63]</sup>. Für Anionen – die somit eine abschirmende Wirkung auf die quartären Amine zeigen – verläuft die Reihe von Fluorid aus entsprechend steigender Polarisierbarkeiten hin zu steigenden Abschirmungen<sup>[12][64][65]</sup>:



Bezogen auf Kationen verläuft die Reihe, beginnend bei  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ , ebenfalls mit steigender abschirmender Wirkung auf die Sulfonsäuregruppe<sup>[12][66]</sup>:



$H^+$  ist bei dieser Auflistung bewusst in Klammern gesetzt, da es unter den Kationen eine Sonderrolle einnimmt und daher von *Cook et al.* nicht in die Untersuchungen mit einbezogen wurde<sup>[12]</sup>. Dennoch konnten *Hu et al.* eine sehr hohe Retention von  $H^+$  auf einem Austauscher mit innenliegender Kationenaustauschergruppe und außenliegender Anionenaustauschergruppe (Typ A Austauscher) feststellen<sup>[66]</sup>. Die Retention des  $H^+$  war dabei deutlich höher als die der zweiwertigen Kationen, wie z. B.  $Ca_2^+$ . Aus diesem Grund ist  $H^+$  in der *Hofmeister*-Reihe nach  $Ca_2^+$  eingeordnet.

Um die Wirkung der abschirmenden Effekte zu verdeutlichen gehen *Cook et al.* von der Ausbildung von *Donnan*-Membranen, wie sie in Abbildung 2.11 dargestellt sind, aus.

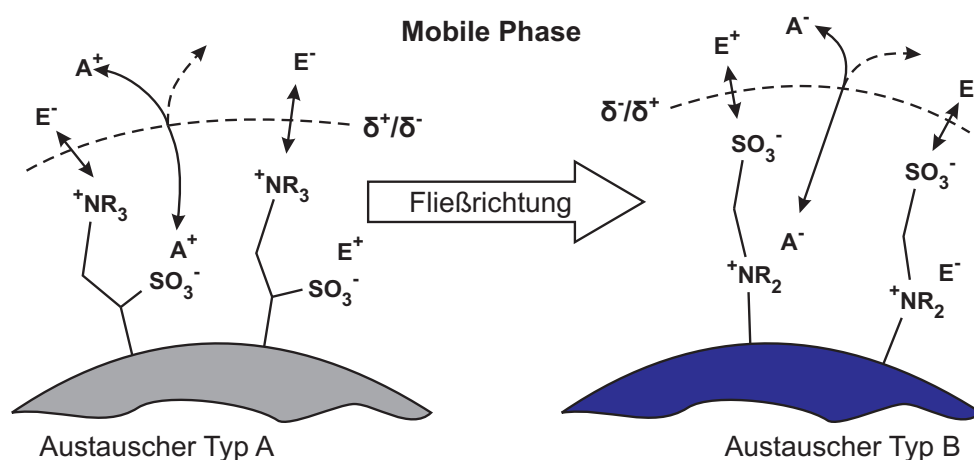


Abbildung 2.11: Von *Cook et al.* vorgeschlagene *Donnan*-Membran<sup>[11]</sup>.

Die Ladung dieser Membranen ist ein Ergebnis der unterschiedlichen Abschirmungen der beiden Austauscherfunktionen und kann in beiden Fällen sowohl positiv als auch negativ sein. Für den Typ A Austauscher ist eine  $\delta^-$ -geladene Membran vorteilhaft, da diese das Eindringen der Analytkationen nicht bzw. möglichst wenig verhindert. Umgekehrt ist eine  $\delta^+$ -geladene *Donnan*-Membran für Austauscher mit innenliegender Anionenaustauscherfunktion vorteilhaft.

Die Argumentation von *Cook et al.* wird anhand eines Typ A Austauschers geführt, ist aber – mit jeweils veränderten Vorzeichen der Membranladung – auch auf Typ B Austauscher übertragbar. Die resultierende „Gesamtmembran“ wird für den Fall eines Typ A Austauschers unter Verwendung von  $CeCl_3$  als Elutionen stark positiv sein. Bei  $Ce_3^+$  handelt es sich um ein stark abschirmendes Eluent-Kation, welches die Ladung der innenliegenden Sulfonsäure bestmöglich unterdrückt. Auf der anderen Seite stellt das  $Cl^-$  ein recht schwach abschirmendes Eluent-Anion dar, die resultierende Überschussladung ist demnach positiv.

Wechselt man nun die Elutionenspezies von  $CeCl_3$  zu  $NaClO_4$ , wird dadurch drastisch die resultierende *Donnan*-Membran verändert. Das  $Na^+$ -Kation steht in der chaotropen Reihe ganz

links, ist also ein sehr schwach abschirmendes Kation. Die innenliegende Sulfonsäure wird demnach nur schwach abgeschirmt und ist prinzipiell für Analytkationen deutlich besser zugänglich. Zudem ist das  $\text{ClO}_4^-$ -Anion ein sehr stark abschirmendes Anion. Dieses schirmt die positive Ladung der quartären Amine gut ab, repulsive Wechselwirkungen der Anionenaustauscherfunktionen mit den Analytkationen werden bestmöglich verhindert. Aus diesen abschirmenden Effekten resultiert, anders ausgedrückt, eine weniger positive bzw. für den Fall des  $\text{NaClO}_4$ -Eluenten sogar eine negative *Donnan*-Membran. Die Trennung von Kationen ist somit auf einem Typ A Austauscher unter Verwendung eines  $\text{NaClO}_4$ -Eluenten sehr gut möglich, während ein  $\text{CeCl}_3$ -Eluent die Trennleistungen deutlich reduziert bzw. Trennungen unmöglich macht.

Im Umkehrschluss wären für einen Typ B Austauscher, zu denen die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Sulfobetain austauscher zählen, ein stark abschirmendes Eluent-Kation sowie ein schwach abschirmendes Eluent-Anion für die Trennung anorganischer Anionen vorteilhaft.

### 2.5.2 Retentionsmechanismus der HILIC

Im Gegensatz zur ZIC handelt es sich bei den klassischen Analyten für HILIC-Trennungen nicht um anorganische Ionen, sondern um organische, geladene oder ungeladene, polare Verbindungen. Bei der HILIC handelt es sich um eine chromatographische Methode, bei der es zu einer Partitionierung von Analyten zwischen einer wasserreichen – quasi unbeweglichen – Schicht an einer hydrophilen stationären Phase und einer hydrophoben mobilen Phase kommt<sup>[3]</sup>. Eine solche HILIC-Trennung ist schematisch am Beispiel eines Phosphopeptids als Analyt in Abbildung 2.12 dargestellt<sup>[67]</sup>.

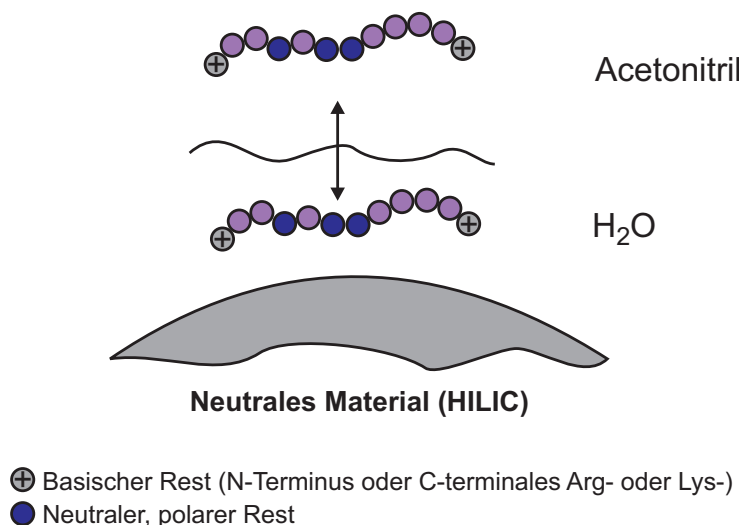


Abbildung 2.12: Schematische Darstellung des hydrophilic partitioning in der HILIC am Beispiel von Phosphopeptiden<sup>[67]</sup>.



Die Polaritätsverhältnisse zwischen mobiler und stationärer Phase sind vergleichbar mit denen der NP-HPLC<sup>[4]</sup>. Die Normalphasen-HPLC leidet jedoch unter eklatanten Problemen, die eine Anwendung in der Praxis immer schwierig gemacht haben. So werden für die NP-HPLC z. B. unfunktionalisierte Kieselgelpartikel eingesetzt, die aufgrund ihrer Silanolgruppen zur Ausbildung von adsorptiven Wechselwirkungen mit polaren Analyten in der Lage sind. Diese Materialien werden mit rein organischen Eluenten (Hexan, Dichlormethan) betrieben und reagieren stark negativ auf die Anwesenheit kleinster Mengen an Wasser. Es müssen also höchst trockene Lösungsmittel eingesetzt werden, da ansonsten die Silanolgruppen von Wassermolekülen blockiert werden und die Retentionszeiten der Analyten abnehmen.

Im Rahmen der HILIC wird mit Eluentgemischen aus Wasser und organischen Lösungsmitteln gearbeitet, wobei der organische Anteil im Bereich von 60% und höher liegen muss. Als stationäre Phasen kommen polare Materialien, wie z. B. schwache Kationenaustauscher oder Aminopropylfunktionalisierte Kieselgelmaterien, zum Einsatz<sup>[4]</sup>. Eine nähere Betrachtung der stationären Phasen für HILIC- und ZIC-HILIC-Trennungen erfolgt unter Punkt 3.

Durch die Wahl sehr modifizierlastiger und damit unpolarer Eluenten und polarer stationärer Phasen, kommt es zur Ausbildung einer quasi-stationären Wasserphase, um die tatsächliche stationäre Phase herum. Eine quasi unbewegliche Schicht an Wassermolekülen bildet also die eigentliche stationäre Phase. Polare Analyten erfahren eine Verteilung zwischen den beiden Phasen, wobei sie sich, je nach Polarität, mehr oder weniger lange in der quasi-stationären Phase aufhalten und daher getrennt werden. Da der Hauptgrund für die Trennung in einer Verteilung – im Gegensatz zur Adsorptionschromatographie – liegt, wird die HILIC häufig auch als „umgekehrte Umkehrphasen-HPLC“ bezeichnet.

Die Elutionsreihenfolge in der HILIC ist in vielen Fällen gerade umgekehrt der Elutionsreihenfolge in der RP-HPLC<sup>[5]</sup>. Aus diesem Grund eignet sich die HILIC besonders für die Trennung polarer organischer Substanzen, die im Rahmen der RP-HPLC im oder nahe am Totvolumen eluieren.

Bezogen auf die zugrundeliegenden Mechanismen ist die HILIC nicht leicht einzuordnen<sup>[1]</sup>. Was die Polaritäten der Phasen angeht, liegt ein Vergleich zur NP-HPLC und damit zu den Modellen adsorptiver Wechselwirkungen nahe. Eines dieser Theoreme ist das *Snyder-Socziewinski* Modell<sup>[68][69]</sup>.

$$\log k' = \log k'_B - \frac{A_S}{n_B} \log X_B \quad (2.31)$$

$k'_B$  ist dabei der Retentionsfaktor eines Analyten für den reinen, stärkeren Eluenten B (in diesem Fall also 100% Wasser),  $A_S$  und  $n_B$  die Querschnittsflächen der von Solut- und Solventmolekülen

besetzten Austauscheroberfläche und  $X_B$  die Molfraktion des stärkeren Eluenten. Dieses Modell liefert somit einen linearen Zusammenhang für die Auftragung von  $\log k'$  gegen  $\log X_B$ .

Auf der anderen Seite steht das von *Alpert* aufgestellte Theorem der Partitionierung<sup>[3]</sup>, d. h. der Verteilungschromatographie. Diverse theoretische Modelle zur Beschreibung dieser Mechanismen wurden bereits unter Punkt 2.3.2 vorgestellt. An dieser Stelle sei nochmals das bevorzugte, linear exponentielle Modell wiederholt, welches einen linearen Zusammenhang für die Auftragung von  $\log k'$  gegen den Volumenanteil an Wasser liefert.

$$\log k' = A + B\varphi \quad (2.32)$$

*Hemström*<sup>[1]</sup> hat versucht, durch Neuauswertung und Überarbeitung literaturbekannter Messdaten, den vorherrschenden Mechanismus der HILIC zu klären. Zu den untersuchten Messungen gehören HILIC-Trennungen von Kohlenhydraten<sup>[70][71]</sup> sowie von verschiedenen Tetracyclinen oder aber Cytosin<sup>[72]</sup>. Obwohl diese Untersuchungen zum Teil auf Partitionierung als dominierende Wechselwirkung hindeuten<sup>[70]</sup>, treten dennoch Effekte auf, die nur über adsorptive Wechselwirkungen mit der stationären Phase erklärt werden können. So wird unter Verwendung von Aminopropyl-Silica-Materialien ein starker katalytischer Effekt auf die Mutarotation von Zuckern beobachtet, der nur über direkte Wechselwirkungen mit der stationären Phase erklärt werden kann<sup>[71]</sup>. Keiner dieser Untersuchungen gelang es jedoch, zweifelsfrei den Beweis für die Dominanz adsorptiver Wechselwirkungen oder aber für das Vorherrschen verteilungschromatographischer Mechanismen zu liefern.

Die Problematik dieser Untersuchungen liegt in erster Linie in der Wahl der Austauschermaterialien und der entsprechenden Analyten. Stationäre Phasen, die für HILIC-Trennungen eingesetzt werden können, müssen grundsätzlich polar sein, um überhaupt die von *Alpert* postulierte quasi-stationäre Wasserphase ausbilden zu können<sup>[3]</sup>. Ebenfalls müssen die Analyten eine gewisse Polarität aufweisen, um unter HILIC-Bedingungen getrennt werden zu können. Die Kombination von polaren – teilweise sogar geladenen – stationären Phasen und ebensolchen Analyten ermöglicht aber grundsätzlich – neben den schwachen Verteilungswechselwirkungen – auch die Ausbildung stärkerer Wechselwirkungen (ionisch, Ion-Dipol, Wasserstoffbrückenbindungen). Diese stärkeren Wechselwirkungen verlaufen stöchiometrisch und folgen daher eher dem Modell von *Snyder-Socziewinski*<sup>[69]</sup>. Aus diesem Grund liefern für HILIC-Trennungen in einigen Fällen sowohl die Anwendung des *Snyder-Socziewinski*-Modells, als auch die Anwendung des empirischen *Schoenemakers*-Modells gute Annäherungen an empirische HILIC-Daten<sup>[1]</sup>. Man muss also davon ausgehen, dass im Rahmen der HILIC mit hoher Wahrscheinlichkeit immer kombinierte Retentionsmechanismen auftreten.

### 2.5.3 Kombinierte Retentionsmechanismen der ZIC-HILIC

Noch komplexer werden die Retentionsmechanismen bei der ZIC-HILIC. Für diese Methode wurden bislang in der Literatur noch keine detaillierten mechanistischen Vorstellungen diskutiert. Neben der Tatsache, dass es sich bei der ZIC-HILIC um eine recht neue Methode handelt, spielt hierfür sicherlich die Komplexität der möglichen Wechselwirkungen eine Rolle.

Mithilfe umfangreicher, systematischer Untersuchungen, ist es evtl. auch für die ZIC-HILIC möglich, Aussagen über die Beiträge der unterschiedlichen Retentionsmodelle und -mechanismen an der Trennung zu treffen. Aufgrund der dauerhaft zwitterionischen Ladung der funktionellen Gruppen ist das Verhalten jedoch auch hier sehr stark analytabhängig. Während ungeladene polare Analyten zumindest keine ionischen Wechselwirkungen eingehen können, ist dies z. B. bei Aminosäuren zweifelsfrei der Fall. Wahrscheinlich ist für die ZIC-HILIC aber – in Analogie zu den Erkenntnissen der Retentionsmechanismen der HILIC –, dass unterschiedliche Retentionsmechanismen parallel vorliegen und je nach Art der Analyten mehr oder weniger stark am Retentionsprozess beteiligt sind. Eine schematische Darstellung der möglichen Interaktionen ist in Abbildung 2.13 gezeigt.

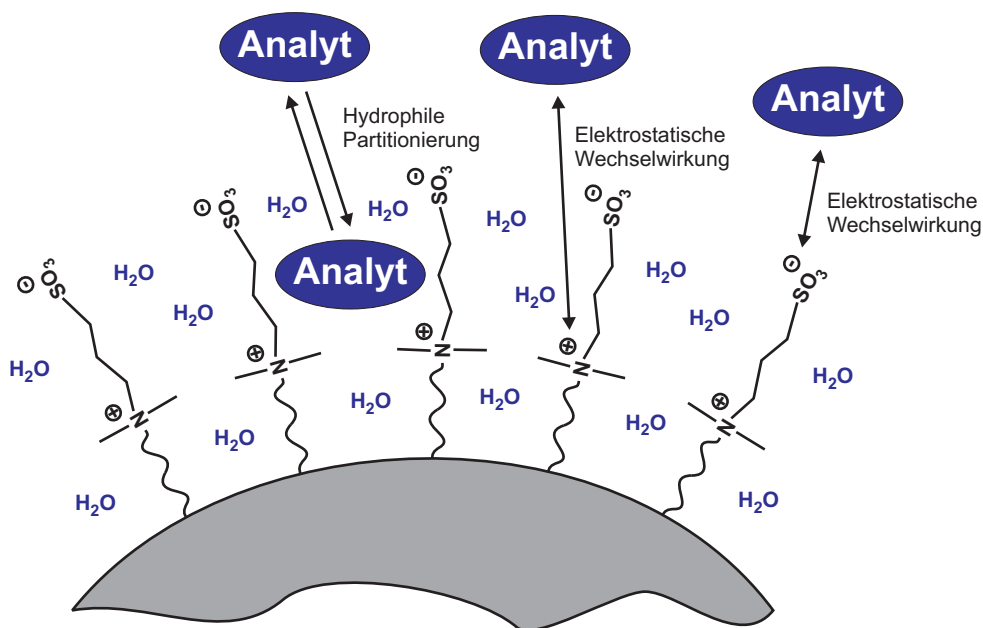


Abbildung 2.13: Schematische Darstellung der Trennmechanismen in der ZIC-HILIC<sup>[73]</sup>.

Die hydrophile Partitionierung trifft wohl für alle hinreichend polaren Analyten bei Modifizieranteilen von 60% und mehr auf. Bezüglich der gezeigten ionischen Wechselwirkungen ist es sinnvoll, die komplexen Vorgänge bei der ZIC näher zu betrachten. Da auch bei ZIC-HILIC-Trennungen grundsätzlich unter Anwesenheit von Elutionen gearbeitet wird, wird es auch in der quasi-stationären Phase zur Ausbildung von EDLs und/oder *Donnan*-Membranen kommen.

Generell sollte man die in der ZIC-HILIC ablaufenden Retentionsmechanismen also als Kombination der in den vorangegangenen Kapiteln gezeigten Modelle auffassen. Wie stark welche Wechselwirkung letztlich auf welchen Analyten wirkt, hängt daher nicht zuletzt auch von der Zusammensetzung der mobilen Phase ab.

## 2.6 Apparativer Aufbau von HPLC-Methoden

Zur Durchführung flüssigkeitschromatographischer Messungen bedient man sich einer Apparatur, die von ihrem Grundaufbau dem in Abbildung 2.14 dargestellten Schema entspricht. Der Eluent wird mithilfe einer HPLC-Pumpe mit hohem Druck durch einen Pulsdämpfer und ein Injektionsventil bis zur Trennsäule – der eigentlichen Trennstrecke – transportiert. Nach erfolgter Trennung findet die Detektion der Analyten statt. Diese kann direkt, nach erfolgter Nachsäulen-derivatisierung oder Suppression des Eigensignals des Eluenten erfolgen.

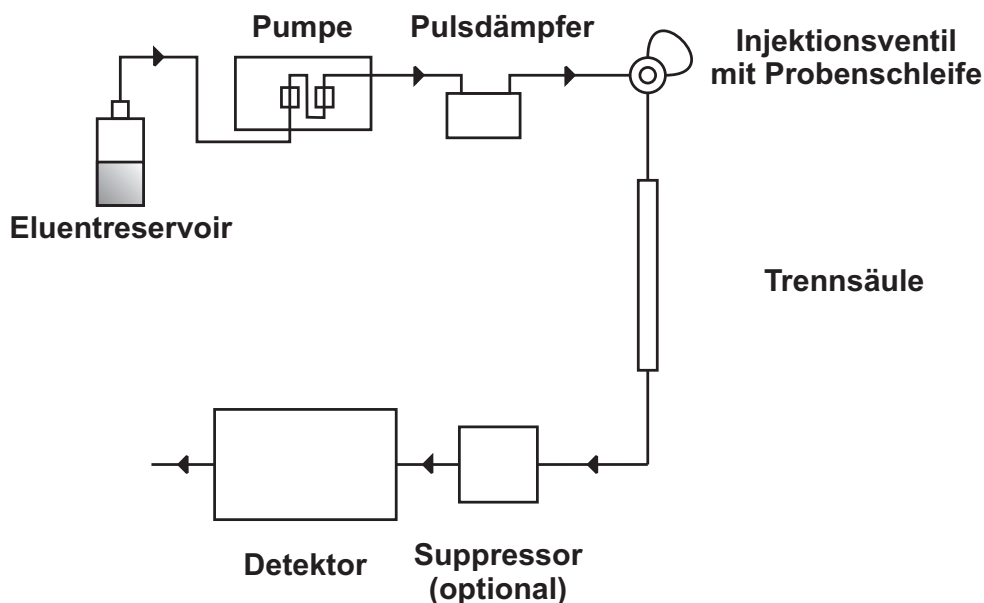


Abbildung 2.14: Schematischer Aufbau eines flüssigkeitschromatographischen Systems.

In Variation zum abgebildeten Aufbau kann auch ein Pumpensystem mit zwei oder mehreren getrennten Eluenten verwendet werden. Die Mischung dieser Eluentkomponenten kann dann vor (Niederdruckgradientensystem) oder nach dem Durchlaufen der Pumpe (Hochdruckgradientensystem) erfolgen. Beide Systeme bieten den Vorteil, dass Gradientenelutionen durchgeführt werden können, d. h. dass die Eluentzusammensetzung während eines Messlaufs verändert werden kann. Hierdurch können auch Analyten mit sehr stark unterschiedlichen Retentionsfaktoren bei guten Auflösungen in akzeptablen Messzeiten getrennt werden.

Das Hochdruckgradientensystem liefert dabei die Möglichkeit einer sehr direkten Umschaltung, d. h. die Zeitspanne vom Umstellen der Eluentzusammensetzung bis zu dem Zeitpunkt, an dem der geänderte Eluent die Trennsäule erreicht, ist sehr kurz. Nachteilig ist, dass pro Eluentbestandteil eine eigene HPLC-Pumpe verwendet werden muss, was letztlich einen enormen Kostenfaktor darstellt. Niederdruckgradientensysteme zeigen ein höheres Totvolumen für die Änderung der Eluentzusammensetzung, kommen dafür aber mit nur einer HPLC-Pumpe aus.

Beim Injektionsventil handelt es sich um ein Sechs-Wege-Ventil mit einer Probenschleife. Hierdurch wird die Einbringung von Proben in den Hochdruckbereich des Systems überhaupt erst ermöglicht. Zudem garantiert die Zugabe über eine Probenschleife, dass reproduzierbare Mengen an Probe im  $\mu\text{l}$ -Bereich injiziert werden können.

Auf die verschiedenen stationären Phasen für die HILIC und Zwitterionenchromatographie wird ausführlich unter Punkt 3 eingegangen.

### 2.6.1 Eluenten in ZIC und ZIC-HILIC

Der Transport der Analyten durch die Trennstrecke und somit entlang der stationären Phase wird durch den Eluentfluss gewährleistet. Als Eluenten werden in der ZIC grundsätzlich wässrige Lösungen verwendet, die zum Teil keine, oder aber definierte Mengen an Elutionen enthalten. Variationen sind in Bezug auf die Elutionenspezies, die Elutionenkonzentration, den pH-Wert oder aber die Pufferkapazität möglich.

Für HILIC- bzw. ZIC-HILIC-Trennungen werden grundsätzlich Eluenten mit Elutionen und einem Zusatz von mindestens 60% organischem Modifier eingesetzt. Für die wässrige Komponente bestehen die gleichen Variationsmöglichkeiten wie für die ZIC-Eluenten. Zudem können der Volumenanteil an Modifier sowie der Modifier selbst geändert werden.

Im Rahmen von ZIC-/ZIC-HILIC-Trennungen werden u. a. Natriumperchlorat-, Natriumacetat-, Ammoniumacetat- und Natriumhydroxid-Eluenten eingesetzt. Als organischer Modifier kommt meist Acetonitril zum Einsatz, aber auch Methanol und andere – mit Wasser vollständig mischbare – organische Lösungsmittel sind denkbar.

Die Wahl des Eluenten richtet sich neben der Art der zu trennenden Analyten in erster Linie nach der verwendeten Detektionsmethode<sup>[50]</sup>.

### 2.6.2 Detektion in der HPLC

In der HPLC stehen unterschiedliche Detektionsverfahren zur Verfügung, wobei die Wahl eines geeigneten Detektors im Hinblick auf die analytische Fragestellung erfolgen muss. Grundsätz-

lich eignen sich Detektoren, die eine hohe Messempfindlichkeit bei kurzen Ansprechzeiten gewährleisten. Zudem sollte das Messsignal über einen relativ großen Konzentrationsbereich proportional zur Analytkonzentration sein. Die gebräuchlichsten Detektoren in der ZIC/ZIC-HILIC sind UV/VIS-, Leitfähigkeits- und massenselektive Detektoren.

### 2.6.2.1 UV/VIS-Detektion

Da im Rahmen von ZIC-HILIC-Trennungen meist polare organische Moleküle untersucht werden und die meisten dieser Analyten eine Absorption im UV-Bereich zeigen, ist die UV/VIS-Detektion weit verbreitet. Der UV/VIS-Detektor wird im Rahmen der HPLC generell häufig eingesetzt, da er z. T. sehr empfindlich sein kann, einen großen linearen Bereich besitzt, relativ unempfindlich gegenüber Temperaturschwankungen ist und auch bei Gradientenelution eingesetzt werden kann<sup>[74]</sup>.

Analyten, die Doppelbindungen benachbart zu einem Atom mit einsamen Elektronenpaaren haben, Brom, Iod oder Schwefelatome tragen, Carbonylgruppen, Nitrogruppen oder aber konjugierte Doppelbindungssysteme aufweisen (auch aromatische Ringe), zeigen Lichtabsorption im UV-Bereich und sind daher für die UV-Detektion zugänglich. Ein Maß für die Fähigkeit der Lichtabsorption von Analyten ist der Extinktionskoeffizient  $\epsilon$ , der für eine Vielzahl von Substanzen literaturbekannt ist<sup>[74]</sup>.

Für eine hohe Empfindlichkeit beim Einsatz in der ZIC-HILIC ist besonders die Wahl des Eluenten entscheidend. Dieser sollte im Idealfall keine der o. g. Gruppen tragen und somit selbst eine geringe Lichtabsorption im UV-Bereich aufweisen. Neben organischen Molekülen ist auch die Detektion einiger UV-aktiver anorganischer Anionen von Interesse.

### 2.6.2.2 Leitfähigkeits-Detektion

Für die Detektion von Ionen bietet sich – eher noch als die UV/VIS-Detektion – grundsätzlich die Leitfähigkeitsdetektion an. Bei den in der ZIC und ZIC-HILIC verwendeten Eluenten ist diese jedoch häufig nicht einsetzbar. Beim Leitfähigkeitsdetektor handelt es sich nämlich um einen nicht selektiven Detektor, dessen Messprinzip auf der Messung der Leitfähigkeit eines Eluentstroms zwischen zwei Platinelektroden basiert. Aufgrund der mangelnden Selektivität eignen sich für unsupprimierte Leitfähigkeitsmessungen nur Eluenten, die eine geringe Eigenleitfähigkeit aufweisen. Ansonsten müsste die Messung einer sehr kleinen Leitfähigkeitsänderung, verursacht durch die Analyten, bei einem sehr hohen Grundsignal erfolgen.

Darüber hinaus besteht die Möglichkeit, die suppressierte Leitfähigkeitsdetektion einzusetzen. Dabei wird der Eluent einer einfachen chemischen Neutralisationsreaktion unterzogen, indem

z. B. die  $\text{Na}^+$ -Ionen eines Natriumcarbonat-Eluenten über einen Kationenaustauscher oder eine Austauschermembran gegen  $\text{H}^+$  ausgetauscht werden. Die resultierende Kohlensäure ist instabil und zerfällt in nichtleitende Bestandteile. Die suppressierte Leitfähigkeitsdetektion kann jedoch nur auf einen sehr kleinen Satz an Eluenten angewendet werden, zu denen neben Carbonat- auch Hydroxideluenten gehören.

Umgangen wird die Problematik der hohen Eluentleitfähigkeit bei ZIC-Messungen unter Verwendung von Reinstwasser als Eluent. Reinstwasser hat nur eine sehr geringe Eigenleitfähigkeit, daher ist die hohe Detektionsempfindlichkeit solcher Trennungen unter Verwendung eines Leitfähigkeitsdetektors ein großer Vorteil<sup>[75]</sup>.

### 2.6.2.3 Kopplungsmethoden

Neben den bereits genannten Detektionsarten sind die Kopplungen der ZIC/ZIC-HILIC mit einem weiteren, eigenständigen Analysenverfahren als Detektionsmethode möglich. Im Rahmen von Kopplungsmethoden wird meist eine Trenntechnik mit einer spektrometrischen Methode gekoppelt. In der Gaschromatographie wird häufig die Massenspektrometrie als Detektionsmethode verwendet (GC-MS). Auch die Kopplung der Flüssigkeitschromatographie und insbesondere der ZIC-HILIC mit der Massenspektrometrie ist möglich (LC-MS). Eine solche Kopplung ist besonders für die Detektion komplexer Analyten in komplexen Probenmatrices interessant<sup>[76]</sup>. Im Rahmen der Trennung anorganischer Ionen ist auch die Kopplung mit atomspektrometrischen Methoden sinnvoll. Hierzu zählen die Kopplung mit der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) oder die Kopplung mit der induktiv gekoppelten Plasma-Atomemissionsspektrometrie (ICP-AES). In Verbindung mit der Ionenaustauschchromatographie (IEC) haben atomspektrometrische Methoden aufgrund hoher Elementspezifität und niedriger Nachweisgrenzen Einzug in die Ultraspurenanalytik gefunden<sup>[77]</sup>. Auch mit der ZIC-HILIC sind solche Kopplungen unter Einsatz spezieller organischer Modifier möglich<sup>[78]</sup>.

### 2.6.2.4 Gepulste amperometrische Detektion

Für leicht oxidier- oder reduzierbare Analyten kann auch die gepulste amperometrische Detektion (engl. *Pulsed Amperometric Detection*, PAD) eingesetzt werden. Dies ist besonders für Analyten sinnvoll, die ansonsten nicht, oder nur unter großem Aufwand mithilfe anderer Methoden detektiert werden können, so wie es z. B. bei Zuckern und Aminosäuren der Fall ist. Beide Substanzklassen können nur mithilfe von Derivatisierung in UV-aktive Verbindungen überführt und damit detektierbar gemacht werden<sup>[79][80]</sup>. Des Weiteren gehören Alkohole und schwefelhaltige Substanzen zu der Gruppe von Analyten, die häufig mittels amperometrischer Detektion nachgewiesen werden<sup>[81][82]</sup>.

Das geeignete Potential für die amperometrische Detektion einer oxidier- oder reduzierbaren Verbindung kann grundsätzlich im Rahmen voltammetrischer Experimente (z. B. cyclovoltammetrisch) durch Aufnahme von Strom-Spannungskurven bestimmt werden<sup>[83]</sup>. Bei der Amperometrie selbst werden keine vollständigen Strom-Spannungskurven aufgezeichnet, sondern es wird ein konstantes Arbeitselektrodenpotential gewählt und der dabei durch die Phasengrenze Elektrode/Elektrolyt fließende Diffusionsgrenzstrom gemessen. Zur Durchführung dieser Messungen wird eine Drei-Elektroden-Anordnung verwendet. Als Elektrodenmaterial für die Arbeitselektrode werden v. a. edle Metalle wie Gold, Nickel, Kupfer oder Platin verwendet, es kommen aber auch Legierungen dieser Metalle zum Einsatz<sup>[84]</sup>.

Durch Anlegen geeigneter Potentiale werden die meisten Analyten – wie auch die Kohlenhydrate und Aminosäuren – anodisch oxidiert. Bezüglich der elektrochemischen Oxidation von Kohlenhydraten<sup>[85]</sup> und Aminosäuren<sup>[86][87]</sup> an Goldelektroden wurden bereits weitreichende Untersuchungen angestellt.

Sowohl für Aminosäuren, als auch für Kohlenhydrate kann die amperometrische Detektion somit eingesetzt werden. In beiden Fällen liefert die standardmäßige Amperometrie jedoch gewisse Probleme. Beim Anlegen eines konstanten Potentials kommt es auf der Elektrodenoberfläche zur Ablagerung von Oxidationsprodukten, zum sogenannten *Fouling* der Elektrode<sup>[83]</sup>. Diese Ablagerungen blockieren die Elektrodenoberfläche und verringern dadurch mit der Zeit die Signalintensitäten. Um dies zu verhindern, kann die sogenannte gepulste amperometrische Detektion (PAD) eingesetzt werden. Diese basiert auf dem gleichen Aufbau wie die klassische Amperometrie, an die Elektrode wird nun aber kein konstantes Potential angelegt, sondern eine Sequenz an verschiedenen Potentialen.

Die Detektion erfolgt bei einem Potential, das ausreicht, um die Analyten zu oxidieren. Nach dem Detektionsschritt wird ein deutlich höheres Potential angelegt, bei welchem die Elektrodenoberfläche zu Goldoxid oxidiert wird. Abgelagerte Analytrückstände werden hierdurch oxidativ entfernt. Im Anschluss wird ein leicht negatives Potential angelegt, um die Elektrodenoberfläche wieder zu elementarem Gold zu reduzieren.

Der Einsatz dieser Methode unter HILIC-Bedingungen ist ebenfalls problemlos möglich, sofern Acetonitril als organischer Modifier eingesetzt wird<sup>[88]</sup>.



## 3 Stationäre Phasen in HILIC und ZIC-HILIC

### 3.1 Stationäre Phasen in der HILIC

Obwohl der Begriff HILIC erst im Jahre 1990 von *Alpert*<sup>[3]</sup> geprägt wurde, existieren bereits seit 1975 Veröffentlichungen zu Trennungen, die unter Bedingungen durchgeführt wurden, die denen der HILIC entsprechen<sup>[89]</sup>. Anfangs wurden hierfür häufig underivatisierte Kieselgelphasen verwendet, denen teilweise noch geringe Mengen an Metall-Ionen zugesetzt wurden<sup>[90][9]</sup>.

Speziell im Bereich der Bioanalytik unter Kopplung mit MS/MS-Detektionen werden solche stationären Phasen eingesetzt und erlauben deutliche Empfindlichkeitssteigerungen gegenüber RP-HPLC-Trennungen<sup>[1]</sup>. Die Verwendung von underivatisierten Kieselgelphasen bringt jedoch auch Nachteile mit sich. So beruhen die Mechanismen der HILIC Trennungen auf reinem Kieselgel aufgrund der Tatsache, dass sich auf der Phase nur eine dünne Wasserschicht bilden kann, zum Teil dennoch auf Adsorption anstelle von Partitionierung. Dies führt dazu, dass speziell komplexe Probengemische oft zu Überladungseffekten führen<sup>[91]</sup>.

Neben underivatisierten Silicagelen werden aber auch derivatisierte Kieselgelphasen, wie z. B. starke Kationenaustauscher (Polysulfoethyl A), schwache Kationenaustauscher (SynChropak CM300, PolyCAT A), schwache Anionenaustauscher (PolyWAX, Aminopropyl-Silica, wie z. B. Luna Amino, Spherisorb NH<sub>2</sub>, Zorbax NH<sub>2</sub>), aber auch ungeladene derivatisierte Kieselgele, wie Amid-Silica (TSKgel Amide-80, GlycoSep N) oder Diol-Kieselgele (Inertsil Diol, Lichrosphere Diol 100, Acclaim HILIC-10), eingesetzt. Ein schematischer Überblick über einige der verwendeten Funktionalitäten ist in Abbildung 3.1 gegeben. Eine ausführliche Auflistung kommerziell erhältlicher HILIC-Phasen – unter Angabe der Hersteller und diverser Applikationen – wurde von *Hemström* und *Irgum* angefertigt<sup>[1]</sup>.

Die 3-Aminopropyl-Silica stellen dabei die ersten – in der Zuckertrennung via HILIC – routinemäßig eingesetzten stationären Phasen dar. Sie liefern in der Zuckertrennung eine deutlich höhere Mutarotationsrate als underivatisierte Kieselgele. Dies verhindert die Ausbildung von Doppelpeaks, hervorgerufen durch die Trennung der Anomere. Der Einsatz von Aminopropyl-Silica in der HILIC ist jedoch dennoch schwierig, da die Materialien eine begrenzte Stabilität gegenüber wässrigen Eluenten aufweisen<sup>[92]</sup>. Die Austauscher leiden unter HILIC-Bedingungen an Selbstzersetzung<sup>[93]</sup>. So führt eine katalytische Bindungsspaltung zwischen den Liganden und

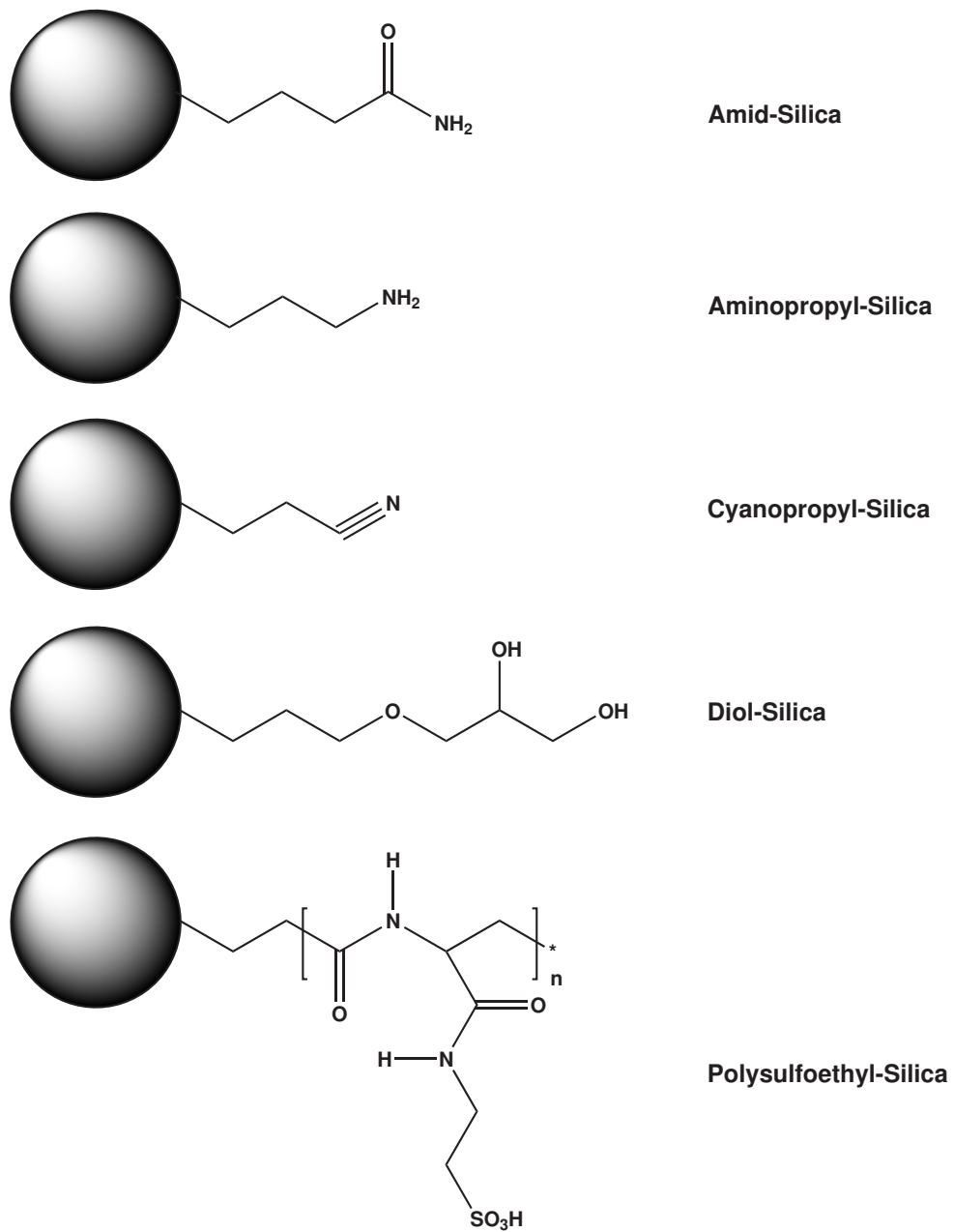


Abbildung 3.1: Übersicht über einige derivatisierte Kieselgelphasen, die für HILIC-Trennungen eingesetzt werden<sup>[1][8]</sup>.

den primären Aminen zu einer mit der Zeit zunehmenden Verschlechterung der Peakformen<sup>[94]</sup>. Neben diesen Nachteilen kommt es mit Aldehyd-Verbindungen als Analyten zur Ausbildung von *Schiff'schen* Basen mit den primären Aminen der stationären Phase und damit zur irreversiblen Adsorption.

Im Gegensatz zu den basischen Aminopropyl-Silica (schwache Anionenaustauscher) werden auch Amid-Silica seit Jahren für die Zuckertrennung eingesetzt. Sie sind weniger reaktiv als Aminopropyl-Silica, die Trennungen sind kaum pH-abhängig und die Materialien sind nicht anfällig gegenüber irreversibler Chemisorption oder Zersetzung. Amid-Silica können daher auch noch nach 500 Injektionen problemlos für die Zuckertrennung eingesetzt werden<sup>[95]</sup>. Zudem werden mit diesen Materialien auch Aminosäuren<sup>[96]</sup>, Peptide<sup>[97]</sup> oder aber Saxitoxine<sup>[98]</sup> (Erreger der paralytischen Form der Muschelvergiftung) getrennt und nachgewiesen.

Diol-Silica stellen eine weitere Gruppe der ungeladenen derivatisierten Kieselgele dar. Sie sind den underivatisierten Kieselgelen am ähnlichsten und wurden entwickelt, um adsorptive Wechselwirkungen zurückzudrängen. Auch diese Austauscher werden für Kohlenhydrattrennungen eingesetzt und zeigen im Vergleich mit Aminopropyl-Silica deutlich bessere Eigenschaften, da auch sie die Nachteile dieser Materialien umgehen. Die geringe Mutarotationsrate führt hierbei jedoch zur Trennung der Anomere und damit zu Doppelpeaks. Dieses Problem kann durch Zusatz von 0,1% Diisopropylamin zum Eluenten gelöst werden<sup>[99]</sup>.

Neben den genannten klassischen HILIC-Phasen werden in den letzten Jahren 20 Jahren zunehmend zwitterionische stationäre Phasen für ZIC- und HILIC-Trennungen eingesetzt.

## 3.2 Zwitterionische stationäre Phasen

Bei zwitterionischen stationären Phasen existiert ebenfalls ein sehr breit gefächertes Spektrum an Materialien. Hierbei sollte jedoch zunächst die Frage beantwortet werden, wie zwitterionische Austauscher überhaupt zu definieren sind.

Das entscheidende Merkmal zwitterionischer stationärer Phasen ist die Anwesenheit von positiv sowie negativ geladenen Austauschergruppen innerhalb eines Partikels<sup>[13]</sup>. Die Ausführungsformen, dies zu erreichen, sind jedoch vielfältig. So existieren Austauscher – zu denen auch das erste literaturbekannte zwitterionische Material von *Stach*<sup>[15]</sup> zählte –, die über den gesamten Partikel statistisch verteilt sowohl quartäre Amine als auch Sulfonsäuren tragen. Jede der einzelnen Austauschergruppen ist dabei direkt an das Grundmaterial gebunden. Des Weiteren können Materialien hergestellt werden, die ebenfalls getrennt voneinander, gegenseitig geladene funktionelle Gruppen tragen, die jedoch nur auf der Partikeloberfläche immobilisiert sind. Eine dritte Art zwitterionischer Austauscher trägt funktionelle Gruppen, die beide geladenen

Austauschergruppen in einem angebundenen Molekül vereinen. Die unterschiedlichen Aufbauprinzipien sind in Abbildung 3.2 zusammengefasst.

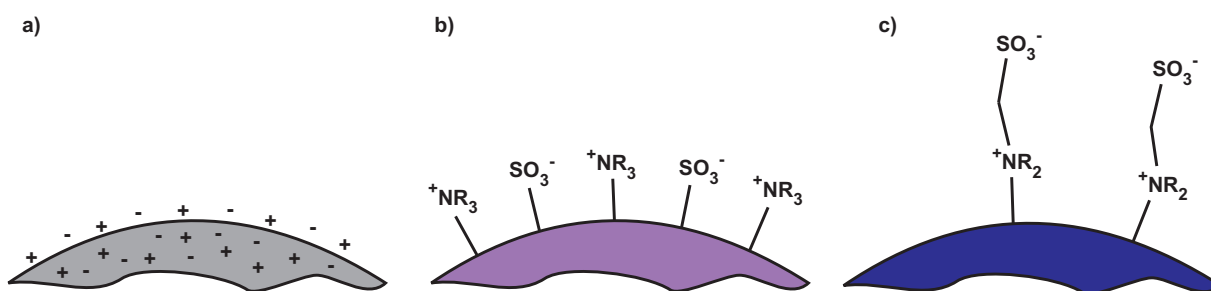


Abbildung 3.2: Übersicht über die verschiedenen Aufbauprinzipien zwitterionischer Austauscher<sup>[13]</sup>, a) vollständig umgesetzte Partikel, b) oberflächenfunktionalisierte Partikel, c) mit zwitterionischen Molekülen oberflächenfunktionalisierte Partikel.

Neben diesen Aufbauprinzipien existieren noch andere Austauschermaterialien, die zwar sowohl Anionen- als auch Kationenaustauscherfunktionen tragen, aber an dieser Stelle nicht zu den zwitterionischen Austauschern gezählt werden sollen. Zum einen sind dies so genannte „Snake-Cage“-Materialien bzw. Retardion-Austauscher, zum anderen pelliculäre Ionenaustauscher. Die „Snake-Cage“-Materialien besitzen z. B. einen starken Anionenaustauscher als Grundgerüst (*Cage*), der mit polymeren Ketten (*Snakes*) eines schwachen Kationenaustauschers belegt wird (AG 11A8, Dow Chemicals, Midland, MI, USA). Hier wird die Anbindung jedoch elektrostatisch erreicht, was bedeutet, dass die meisten Ladungen sich als Gegenionen gegenseitig aufheben. Bei agglomerierten oder pelliculären Austauschern (genauere Beschreibung siehe Punkt 4) werden z. B. sulfonierte Grundkörper mit aminierten Latices belegt, wobei es ebenfalls zur elektrostatischen Anknüpfung der Latexpartikel kommt. Diese Austauscher werden letztlich als reine Anionenaustauscher eingesetzt, da auch hier die Ladungen der innenliegenden Sulfonsäuren durch die quartären Amine neutralisiert und abgeschirmt werden.

Die Herstellung der in Abbildung 3.2 unter a) dargestellten Materialien gelingt z. B. durch Copolymerisation von Styrol und Vinylbenzylchlorid, gefolgt von der Einführung quartärer Amine über S<sub>N</sub>-Reaktion der Chloride mit Trimethylamin und anschließender Sulfonierung mit Schwefelsäure<sup>[15]</sup>. Nach diesen ersten Ansätzen wurde jedoch versucht, zwitterionische Austauscher des Typs b) herzustellen, da in diesem Fall alle angebundenen funktionellen Gruppen auch für die Analyten erreichbar sind und zudem der Massentransfer deutlich besser ist.

Zunächst wurden hierfür Untersuchungen an amphoteren anorganischen Oxiden durchgeführt. Aluminiumoxid (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) liegt, je nach pH-Wert des Eluenten, als =Al-O<sup>-</sup> + H<sup>+</sup> oder aber als =Al<sup>+</sup> + OH<sup>-</sup> vor. Bei einem pH-Wert von 5,2 können mit einem solchen Material simultan anorganische Anionen und Kationen getrennt werden<sup>[100]</sup>. Die pH-Abhängigkeit der Oberflächenladung ist jedoch grundsätzlich problematisch. Aus diesem Grund wurde versucht, Aus-

tauscher mit definierten, dauerhaft geladenen funktionellen Gruppen zu erzeugen. Dazu wurden zunächst polymere, oberflächenfunktionalisierte anionische Austauschermaterialien mit Schwefelsäure behandelt<sup>[101]</sup>. Durch Variation der Einwirkzeit der Schwefelsäure können Austauscher generiert werden, die gleiche Kationen- wie Anionenkapazitäten aufweisen, somit also eine oberflächennahe zwitterionische Schicht besitzen. Ähnliches ist auf Kieselgelbasis möglich, indem zunächst schwache Anionenaustauscher hergestellt werden. Dies gelingt durch Umsetzung von Kieselgel mit *N*-Phenylaminomethyl-(triethoxy)-silan. Anschließend wird dieses Material mit Chlorsulfonsäure umgesetzt, um Sulfonate einzuführen. Somit können auch auf Kieselgelbasis zwitterionische Materialien erzeugt werden, deren Anionenaustauscherkapazität jedoch aufgrund der schwachen Austauschergruppen pH-abhängig ist<sup>[102]</sup>.

Ein Grundproblem aller Austauscher des Typs b) liegt jedoch darin, dass im Rahmen der Synthese sichergestellt werden muss, dass die Kationen- und die Anionenaustauscherkapazitäten exakt gleich sind. Ist dies nicht der Fall, entstehen Austauscher mit Überschussladungen auf der Oberfläche, die von zwitterionischen Materialien stark abweichende Eigenschaften aufweisen können. Um diese Problematik zu umgehen, ist es sinnvoll, zwitterionische Austauscher zu synthetisieren, indem direkt zwitterionische Moleküle auf die Trägermaterialien aufgebracht werden. Die Anbindung solcher Moleküle stellt sicher, dass die Kationen- und Anionenaustauscherkapazitäten gleich sind, da die zwitterionischen Moleküle immer gleich viele dieser Gruppen in sich tragen. Bei den entstehenden Austauschern handelt es sich um Materialien des Typs c).

### 3.2.1 Dynamisch belegte zwitterionische Austauscher

Um zwitterionische Moleküle an Grundmaterialien anzubinden, wurden wiederum unterschiedliche Wege gegangen. Grundsätzlich ist die kovalente Anbindung zwitterionischer Gruppen an Trägermaterialien eine sehr anspruchsvolle Aufgabe<sup>[14]</sup>. Aus diesem Grund wurden anfängliche Untersuchungen durchgeführt, indem RP-HPLC-Materialien (C18-Phasen) mit zwitterionischen Tensiden belegt wurden. Versetzt man eine C18-Trennsäule mit einem zwitterionischen Tensid, das einen ausreichend stark vom C18-Material retardierten Rest trägt, wird das Tensid quasi irreversibel an das Grundmaterial angebunden. Wird für diese Belegung eine ausreichende Menge an Tensid verwendet, kann auch sichergestellt werden, dass die gesamte Austauscheroberfläche mit Tensiden belegt ist, wobei die zwitterionischen Gruppen in Richtung der polaren, mobilen Phase ragen. Auf diese Weise können diverse dynamisch belegte Austauscher erzeugt werden, die u. a. Carboxybetaine<sup>[103][22]</sup>, Phosphocholine<sup>[104]</sup> oder Sulfobetaine<sup>[105][106]</sup> tragen. Einige der verwendeten Tenside sind in Abbildung 3.3 zusammengefasst.

Der Einsatz zwitterionischer Tenside für die Herstellung belegter zwitterionischer Austauscher

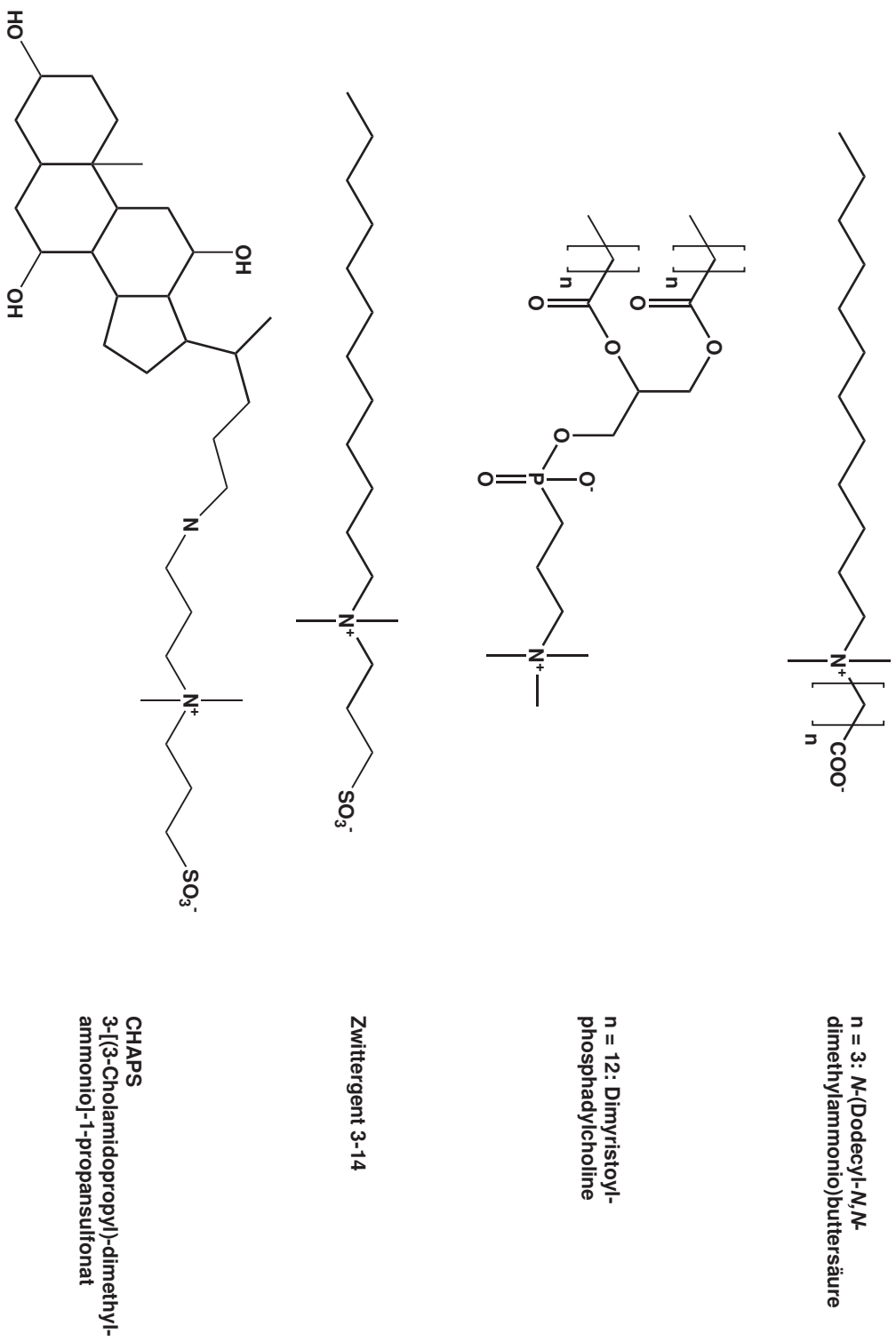


Abbildung 3.3: Übersicht über einige der verwendeten zwitterionischen Tenside zur Bellegung von RP-HPLC-Materialien<sup>[13]</sup>.

liefert einen entscheidenden Vorteil. Die Tenside sind meist leicht (entweder kommerziell oder synthetisch) zugänglich und es lassen sich somit schnell und unkompliziert diverse zwitterionische stationäre Phasen herstellen. Somit können anhand dieser unterschiedlichen Phasen bereits weitreichende mechanistische Untersuchungen angestellt werden. Diese führten u. a. zu dem von *Hu* vorgestellten Modell der EDL<sup>[28]</sup>, ebenso wie zum von *Cook et al.* vorgestellten Modell der *Donnan*-Membranen<sup>[11]</sup>.

Der Großteil der Untersuchungen, die mit dynamisch belegten C18-Phasen durchgeführt wurden, beschränkt sich jedoch auf die Anionen- und Kationentrennung unter wässrigen Bedingungen. Einer der Gründe hierfür ist die teilweise mangelnde Stabilität der Anbindung. Zwar erlaubt der hydrophobe Rest der zwitterionischen Tenside eine starke Retention dieser Moleküle an der C18-Phase, ein hoher Anteil an organischem Modifier im Eluenten verringert jedoch diese Anbindung. Bereits unter rein wässrigen Bedingungen ist es von entscheidender Bedeutung, Tenside zu finden, bei denen die Trennsäulen kein „Bluten“ der Tenside zeigen. Bei Wahl geeigneter Tenside sind reproduzierbare Messungen zumindest über mehr als 450 Messungen hinweg möglich<sup>[107]</sup>.

Dies gilt, wie bereits dargestellt, lediglich unter Verwendung wässriger Eluenten. Gerade Acetonitril als Eluentzusatz ist ein sehr starker Eluent in der RP-HPLC. Bei Modifieranteilen von 60% und mehr kann selbst für sehr stark retardierte zwitterionische Tenside nicht mehr von einer dauerhaften Belegung ausgegangen werden. Aus diesem Grund ist es sinnvoll, die Überlegung der Anbringung zwitterionischer Gruppen an Trägermaterialien auf kovalente Anbindungen zu übertragen.

### 3.2.2 Austauscher mit kovalent gebundenen zwitterionischen Gruppen

In dieser Hinsicht sind ebenfalls schon entscheidende Fortschritte gemacht worden. Den Anfang machten *Jiang* und *Irgum*, die einen Syntheseweg für die kovalente Anbindung von Sulfobetain-Gruppen an 2-Hydroxyethylmethacrylat-Polymere (HEMA) vorstellten<sup>[21]</sup>.

In der Zwischenzeit ist es gelungen, weitere zwitterionische Gruppen kovalent an polymere Grundmaterialien sowie an Kieselgele anzubinden. Eine Auswahl der bislang untersuchten Austauscher ist schematisch in Abbildung 3.4 dargestellt.

Das Spektrum reicht von Sulfobetain austauschern auf Polymer- und Kieselgelbasis, über kovalent gebundene Aminosäuren bis hin zu Phosphocholinaustauschern und imidazolgebundenen Sulfonsäuren. Die Sulfobetain- und die Phosphocholinaustauscher stellen dabei den Großteil der untersuchten Materialien dar.

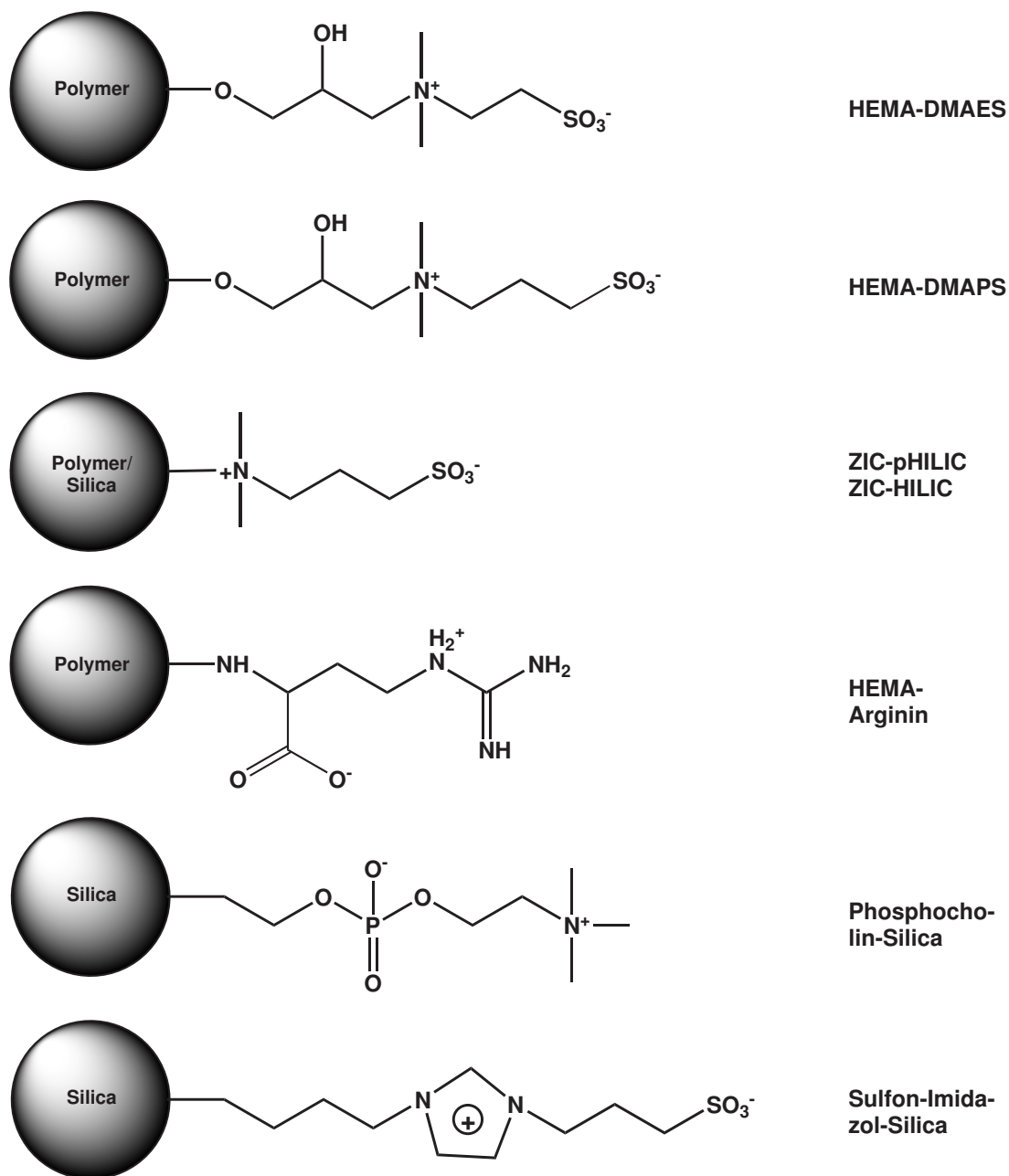


Abbildung 3.4: Übersicht über eine Auswahl kovalent angebundener zwitterionischer Austauscher<sup>[22]</sup>.



Bezüglich der Sulfobetain-Materialien wurden vornehmlich von *Irgum et. al* bzw. der Fa. SeQuant Untersuchung an Austauschern mit zwei, respektive drei Methylengruppen zwischen Amin und Sulfonsäure durchgeführt<sup>[21][108]</sup>. Auch bezüglich der Phosphocholinaustauscher sind die Abstände von zwei und drei Methylengruppen zwischen innenliegender Phosphonsäure und außenliegendem Amin üblich<sup>[109][110]</sup>.

Während Phosphocholin- und Sulfobetain-Materialien dauerhafte und pH-Wert unabhängige Ladungen tragen, ermöglicht die amphotere Natur der Aminosäuren eine Anpassung der jeweiligen Anionen- und Kationenkapazitäten über den pH-Wert. Neben dem abgebildeten HEMA-Arginin existieren weitere zwitterionische Austauscher, die auf Aminosäuren basieren und meist Kieselgel als Grundmaterial besitzen<sup>[111][112]</sup>.

Neben den bereits genannten Phasen wurden vor kurzer Zeit von der Firma Sielc (Prospect Heights, IL, USA) zwei zwitterionische Materialien unter den Handelsnamen Obelisc N und Obelisc R auf den Markt gebracht, über deren Aufbau und Struktur jedoch nur wenig bekannt ist. Bei dem Austauscher Obelisc R handelt es sich um ein Material mit innenliegender Anionen- und außenliegender Kationenaustauscherfunktion, welche über einen hydrophoben Rest miteinander verbunden sind. Trotz der zwitterionischen Natur zeigt diese Trennsäule besonders RP-HPLC-Eigenschaften und wird daher als RP-Trennsäule verkauft. Die Obelisc N besitzt ein umgekehrtes Ladungsverhältnis (negative Ladung innen, positive Ladung außen) sowie eine hydrophile Verbindung zwischen den Ladungen. Dieses Material wird für HILIC-Anwendungen angeboten.

Abschließend kann festgestellt werden, dass die Anzahl an zwitterionischen stationären Phasen mit kovalent angebundenen zwitterionischen funktionellen Gruppen bislang recht überschaubar ist. Aus diesem Grund können systematische Untersuchungen an einem homologen Satz zwitterionischer Austauscher entscheidend dazu beitragen, ein tieferes Verständnis der Zwitterionenchromatographie und der ZIC-HILIC zu erlangen.



## 4 Agglomerierte Austauscher in der Anionenaustauschchromatographie

Neben der Herstellung und chromatographischen Charakterisierung zwitterionischer stationärer Phasen werden im Rahmen dieser Arbeit agglomerierte Anionenaustauscher hergestellt. Hierfür werden zwitterionische Grundmaterialien mit kommerziellen Latex-Partikeln versetzt.

Für den Fall anionischer oder kationischer Grundmaterialien ist die Erzeugung von Latex-Austauschern bereits seit den Arbeiten von *Small et al.* möglich<sup>[49]</sup>. Ihnen gelang es, eine mit Sulfonsäuregruppen funktionalisierte Polymeroberfläche mit kleinen porösen Polymerteilchen – die als Latex-Partikel bezeichnet werden – zu belegen. Die Latex-Partikel tragen wiederum funktionelle Gruppen (siehe Abbildung 4.1) und werden durch elektrostatische Wechselwirkungen an das Grundmaterial gebunden.

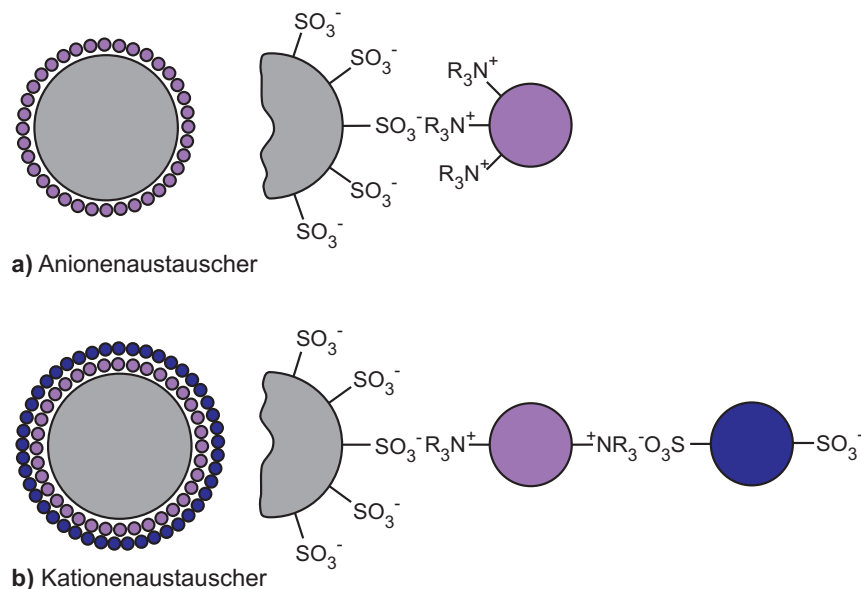


Abbildung 4.1: Aufbau von Latexaustauschern, a) Anionenaustauscher, b) Kationenaustauscher<sup>[34]</sup>.

Bei diesen stationären Phasen handelt es sich um sogenannte pelliculare Austauscher. Im Falle der Anionenaustauscher stellt die Schicht an Latex-Partikeln das eigentliche Austauschermaterial dar. Die prinzipiell gleich aufgebauten Kationenaustauscher besitzen noch eine zusätzliche Schicht sulfonierter Latex-Partikel<sup>[34]</sup>.

Der Vorteil der pellicularen stationärer Phasen liegt in einer verbesserten chromatographischen Effizienz, da die Diffusionswege aufgrund der größeren Entfernung der Austauschergruppen vom Trägermaterial klein gehalten werden. Ein Nachteil dieser Austauscher liegt in einer geringeren chemischen Stabilität verglichen mit oberflächenfunktionalisierten Materialien<sup>[50]</sup>.

Für pelliculare Anionenaustauscher wird meist ein Kern aus oberflächensulfonylierten PS/DVB- oder EVB/DVB-Copolymeren eingesetzt, die Latexpartikel bestehen aus Polyvinylchlorid oder Polymethacrylat. Durch diesen Aufbau können Anionen lediglich an die Oberflächen der Latexpartikel diffundieren, nicht jedoch in die Nähe der Grundpartikel. Grund hierfür ist die Ausbildung einer negativ geladenen Überschussladung – einer sogenannten *Donnan*-Membran – um das sulfonierte Grundmaterial herum. Kationen können hingegen durch die Latexpartikel hindurch oder an diesen vorbei bis zum sulfonierten Grundmaterial gelangen und dort von überschüssigen Sulfonsäuregruppen retardiert werden.

Um dies zu verhindern, bietet es sich an, zwitterionische Grundmaterialien für die Erzeugung pellikularer Anionenaustauscher einzusetzen. Es bildet sich dabei ein in Abbildung 4.2 schematisch dargestellter Austauscher.

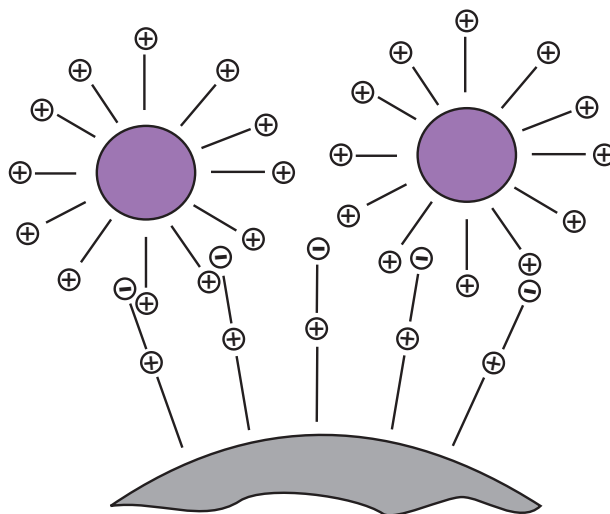


Abbildung 4.2: Aufbau eines Latex-Anionenaustauschers mit zwitterionischem Grundgerüst.

Die für die elektrostatische Anbindung benötigten Sulfonsäuregruppen werden von den zwitterionischen Funktionalitäten bereitgestellt. Hält man – im Rahmen der Grundmaterialsynthese – die zwitterionische Kapazität der Grundkörper niedrig, kann zudem die Anzahl freier, nicht für die elektrostatische Anbindung benötigter funktioneller Gruppen minimiert werden. Der entstehende Austauscher sollte somit nur elektrostatisch abgesättigte Sulfonsäuren und im Inneren quartäre Amine tragen. Da derartige agglomerierte Austauscher bislang nicht literaturbekannt sind, muss geklärt werden, inwieweit das mögliche Fehlen der zuvor beschriebenen *Donnan*-Membran sich auf die Trenneigenschaften solcher Materialien auswirkt.

## 5 Pffropfpolymerisation zur Darstellung zwitterionischer Austauscher

Für die Herstellung zwitterionischer Grundmaterialien – sowohl für den direkten Einsatz als stationäre Phasen, als auch zur Erzeugung von Latex-Austauschern – muss zunächst eine geeignete Funktionalisierungsreaktion bereitstehen, um die zwitterionischen funktionellen Gruppen an das Trägermaterial anzubinden. Generell sollen im Rahmen dieser Arbeit oberflächenfunktionalisierte Materialien erzeugt werden, die kovalent an das Grundmaterial gebundene funktionelle Gruppen tragen. Im Gegensatz zu den bislang häufig untersuchten dynamisch belegten C18-Phasen, weisen kovalent gebundene Austauscher deutlich höhere chemische Stabilitäten auf. Eine Möglichkeit, oberflächenfunktionalisierte Materialien zu erzeugen, besteht darin, funktionelle Gruppen durch Beschichtung des Trägermaterials einzuführen (engl. *Coating*). Dabei werden präfunktionalisierte Copolymerketten zunächst hydrophob an das Trägermaterial gebunden, anschließend durch eine Polymerisation miteinander verknüpft und somit als quervernetzte Schicht um den Grundkörper fixiert. Im Gegensatz zu oberflächenfunktionalisierten Austauschermaterialien mit kovalent angebundenen Funktionalitäten, weisen *gecoatete* Materialien jedoch meist größere Schichtdicken an funktionellen Gruppen auf und haben daher negative Einflüsse auf den Massentransfer von der mobilen zur stationären Phase<sup>[113]</sup>.

Aus diesem Grund werden im Rahmen dieser Arbeit funktionelle Gruppen durch Funktionalisierungsreaktionen direkt an polymere Grundmaterialien angebunden. Für die Herstellung solcher Austauscher stehen ebenfalls unterschiedliche Konzepte zur Verfügung. So ist es z. B. möglich, bei der Synthese der Grundpartikel bereits Funktionalitäten einzubinden, die eine spätere Umsetzung zur eigentlichen funktionellen Gruppe ermöglichen. Ein solcher Syntheseweg ermöglicht u. a. die Herstellung der in Abbildung 3.4 dargestellten Materialien HEMA-DMAES und HEMA-DMAPS<sup>[21]</sup>. In beiden Fällen werden die OH-Gruppen des 2-Hydroxymethacrylat-Grundmaterials zunächst mit Epichlorhydrin aktiviert und anschließend unter Öffnung des Epoxidrings mit dem entsprechenden Sulfobetain mit tertiärem Amin umgesetzt. Der Nachteil dieser Reaktionsführung liegt darin, dass die im Grundmaterial vorhandene funktionelle Gruppe nur für einen begrenzten Satz an Folgereaktionen geeignet ist. Möchte man später eine stationäre Phase mit anderen funktionellen Gruppen herstellen, muss evtl. die Grundmaterialsynthese umgestellt werden, um andere Anknüpfungspunkte zu schaffen.

## 5.1 Grundlagen der Pfropfpolymerisation

Um diesen Nachteil zu umgehen, bietet sich die Verwendung einer Pfropfpolymerisation (engl. *Grafting*) zur Einführung funktioneller Gruppen in ein polymeres Grundmaterial an. Pfropfpolymerisationen werden bereits seit geraumer Zeit für die Herstellung stationärer Phasen für die Chromatographie eingesetzt<sup>[114][115][116]</sup>. Grundlage der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Synthesen ist die von *Raskop* entwickelte Reaktion – im weiteren Verlauf der Arbeit als EVO-Synthese bezeichnet<sup>[37][117]</sup>.

Im Rahmen der EVO-Synthese werden Styrolerivate eingesetzt, die über eine Polymerisationsreaktion mit freien Doppelbindungen von PS/DVB-Trägermaterialien reagieren. Durchgeführt wird die Reaktion in einem Lösungsmittelgemisch aus Ethanol/Wasser oder Aceton/Wasser, als Radikalstarter wird Kaliumperoxodisulfat in stöchiometrischen Mengen eingesetzt. Die Reaktion verläuft nach dem in Abbildung 5.1 dargestellten Schema.

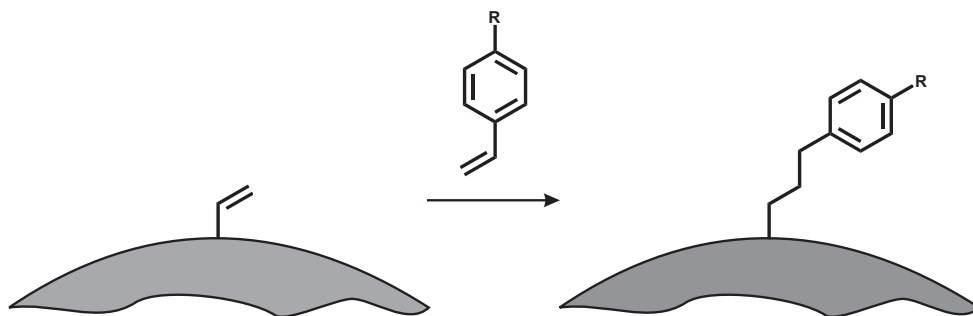


Abbildung 5.1: Schematischer Reaktionsverlauf der EVO-Synthese zur Anbindung von Styrolderivaten an PS/DVB<sup>[118]</sup>.

Bei der Entwicklung der EVO-Methode kamen als Styrolerivate Moleküle zum Einsatz, die als Reste quartäre Ämine trugen. Die ersten, auf diese Weise hergestellten Austauschermaterialien, waren Anionenaustauscher<sup>[37]</sup>. *Raskop* postulierte, dass die Verwendung von tensidartigen Molekülen für die EVO-Synthese diverse Vorteile bietet. Eines der von ihm verwendeten Ionomere ist in Abbildung 5.2 unter a) dargestellt. Das ionische Monomer besitzt den unpolaren Styrolrest sowie ein quartäres Amin, also einen geladenen und somit stark polaren Rest.

Der unpolare, hydrophobe Rest wird sich in der EVO-Synthese, bei gleichzeitigem Vorhandensein von ionischem Monomer (auch Ionomer genannt) und Trägermaterial in einer Reaktionssuspension, an das ebenfalls unpolare und hydrophobe Trägermaterial anlagern. Das hydratisierte, hydrophile Ende des Monomers sollte dabei vom PS/DVB-Grundmaterial weg in die wässrige Lösung ragen. Dieses Verhalten führt zu einer Anordnung, welche die Anbindung im Rahmen der Pfropfpolymerisation begünstigt. Ein weiterer Vorteil des geladenen Restes liegt darin, dass

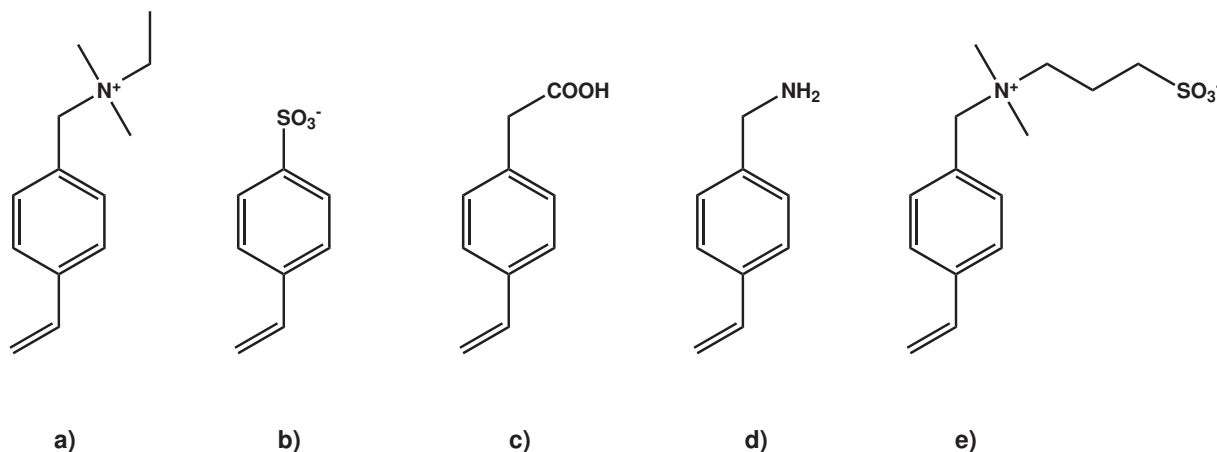


Abbildung 5.2: Übersicht über verschiedene Styrolerivate, die im Rahmen der EVO-Synthese eingesetzt werden.

bei einem Überschuss an ionischem Monomer dennoch nicht die gesamte Grundpartikeloberfläche voll mit dem Ionomer belegt sein wird. Aufgrund der gleichgeladenen Aminfunktionen sollten die Monomere sich gleichmäßig, mit durch die elektrostatische Repulsion vorgegebenen Abständen um die Polymerpartikel anordnen. Dies führt zu einer homogenen Ladungs- und Kapazitätsverteilung über das gesamte Austauschermaterial. Neben der homogenen Verteilung wurde von *Raskop* postuliert, dass die elektrostatische Abstoßung auch die Bildung von Polymerketten der ionischen Monomere verhindert, so dass es zur Anbindung einer Monolage an funktionellen Gruppen kommen sollte. Ein weiterer Vorteil tensidartiger Monomere liegt darin, dass diese Moleküle aufgrund ihrer Größe und Ladung bevorzugt die Partikeloberfläche belegen. Ein Eindringen der Ionomere in Meso- und Mikroporen des PS/DVB ist unwahrscheinlich. Alle Austauscherfunktionen sollten demnach letztlich sehr homogen verteilt und für Analyten zugänglich sein<sup>[37]</sup>.

Neben dieser homogenen Verteilung der funktionellen Gruppen ist es für die Erforschung neuer stationärer Phasen ein unschätzbarer Vorzug der EVO-Synthese, dass mit dieser Methode nicht nur eine spezielle Art von funktionellen Gruppen auf das Trägermaterial aufgebracht werden kann, sondern eine große Bandbreite von Molekülen. Nach den dargestellten Vorstellungen können grundsätzlich zumindest alle Monomere eingesetzt werden, die einen Styrolrest tragen und in ionischer Form vorliegen. Hierzu zählen z. B. die von *Schabram* eingesetzten Sulfonsäurederivate<sup>[119]</sup> (b) in Abbildung 5.2). Die Verwendung von Monomeren mit Tensidcharakter ist jedoch nicht zwingend notwendig. So können auch ungeladene Moleküle bzw. Moleküle mit schwachen Kationen- und Anionenaustauscherfunktionen problemlos eingesetzt werden. Hierzu zählen u. a. die von *Rieß* verwendeten Carbonsäurederivate<sup>[39]</sup> oder das von *Theis* eingesetzte primäre Amin<sup>[120]</sup> (c) und d) in Abbildung 5.2). Unter Verwendung von Kaliumperoxodisulfat als Radikalstarter liegen saure Reaktionsbedingungen vor, so dass zumin-

dest die Carbonsäurederivate ungeladen vorliegen. Die Reaktion des primären Amins wurde im basischen Milieu durchgeführt, so dass auch in diesem Fall ein ungeladenes Molekül über die EVO-Synthese angebunden wurde. In Analogie hierzu müsste es auch möglich sein, die in Abbildung 5.2 unter e), beispielhaft am Sulfobetain mit C3-Abstand zwischen den Ladungen, gezeigten zwitterionischen Monomere als Funktionalisierungsreagenzien für die EVO-Synthese einzusetzen.

Was den tatsächlichen Mechanismus der Pffropfpolymerisation in der EVO-Synthese anbelangt, werden im Rahmen aktueller Arbeiten weiterführende Untersuchungen angestellt<sup>[118][121]</sup>. Während *Raskop*<sup>[37]</sup> noch die Ausbildung einer Monolage an funktionellen Gruppen um die PS/DVB-Grundkörper vorgeschlagen hat, kann *Theis* die Bildung von Homopolymerkettens aus ionischen Monomere nachweisen<sup>[118]</sup>. Die elektrostatische Abstoßung der untersuchten quartären Amine verhindert diese Reaktion folglich nicht oder zumindest nicht vollständig. Bezüglich des Mechanismus bestehen nun zwei Möglichkeiten. Zum einen kann es zur Anbindung eines „Startmonomers“ an das PS/DVB-Grundgerüst kommen, an dem letztlich eine Polymerkette aus ionischen Monomeren wächst. Auf der anderen Seite ist auch die Bildung von Homopolymerkettens in der Lösung denkbar<sup>[122]</sup>. Ob und inwieweit solche, in der Lösung gebildeten Homopolymerkettens auftreten und evtl. als Kette noch an das PS/DVB-Grundmaterial angebunden werden können, ist bislang noch nicht abschließend geklärt. Eine weitere aktuelle Arbeit von *Beermann*<sup>[121]</sup> soll hierfür ebenfalls weiterführende Erkenntnisse liefern.

Für die im Rahmen dieser Arbeit dargestellten zwitterionischen Austauscher wird die EVO-Synthese – ohne Blick auf deren nicht vollständig geklärten Mechanismus – unter etablierten Standardbedingungen eingesetzt. Durch entsprechende Aufreinigungsschritte kann zumindest sichergestellt werden, dass es zu einer kovalenten Anbindung der zwitterionischen Monomere an das PS/DVB-Grundmaterial kommt, und nicht lediglich zu einer Beschichtung des Materials.

## 5.2 Kapazitätsbestimmung gegrifteter zwitterionischer Austauscher

Nach der erfolgreichen Synthese zwitterionischer Austauscher ist die Menge an funktionellen Gruppen, die an dem Grundmaterial angebunden wurden, ein entscheidendes Charakterisierungsmerkmal für diese Materialien. Um später Vergleiche in Abhängigkeit der Kettenlängen zwischen den Ladungen der Sulfobetainaustauscher anstellen zu können, muss sichergestellt sein, dass die Materialien sich lediglich in diesem Abstand zwischen Amin und Sulfonsäure unterscheiden. Alle hergestellten zwitterionischen Austauscher verschiedener Kettenlängen müssen somit vergleichbare Kapazitäten aufweisen, damit festgestellte Unterschiede nicht fälschlich auf



den Ladungsabstand bezogen werden, obwohl sie evtl. von unterschiedlichen Kapazitäten herühren.

Die Kapazitätsbestimmung ist somit im Rahmen der Austauschersynthese ein ganz entscheidendes Kriterium. Zur Bestimmung der Austauscherkapazitäten von Anionen- und Kationenaustauschern existieren bereits seit Jahren eine Vielzahl von Methoden<sup>[123]</sup>.

Am wichtigsten sind hierbei dynamische Bestimmungsmethoden, bei denen u. a. bereits Material in gepackten chromatographischen Trennsäulen untersucht wird. Gerade für starke Ionenaustauscherfunktionen (quartäre Amine, Sulfonsäuren) haben sich Belegungsexperimente mit anschließender Titration als sinnvoll erwiesen. So werden z. B. im Rahmen der Untersuchung von Anionenaustauschern die Materialien zunächst über einen definierten Zeitraum mit einer hochkonzentrierten Natronlaugelösung gespült. Der Zeitraum bzw. das Durchflussvolumen muss so gewählt sein, dass alle Austauschergruppen in der  $\text{OH}^-$ -Form vorliegen (üblicherweise mehrere Säulenvolumina). Im Anschluss wird die Trennsäule mit Reinstwasser gespült, und danach das  $\text{OH}^-$  mithilfe einer anderen Ionensorte von den Austauscherplätzen verdrängt. Hier kann z. B. NaCl zum Einsatz kommen, wobei auch für diese Verdrängung eine hochkonzentrierte Eluentlösung für einen ausreichend langen Zeitraum durch die Trennsäule gepumpt werden muss, so dass alle Austauschergruppen in der  $\text{Cl}^-$ -Form vorliegen. Die Menge an  $\text{OH}^-$  im Eluat entspricht nun der molaren Menge an Austauschergruppen in der Trennsäule und kann titrimetrisch bestimmt werden.

Neben dieser dynamischen Methode können Kapazitäten auch mithilfe elementaranalytischer Verfahren bestimmt werden. Dabei besteht jedoch die Gefahr, dass auch Austauschergruppen bestimmt werden, die evtl. für Analyten aufgrund ihrer Lage im Grundkörper (z. B. innerhalb von Microporen) nicht zugänglich sind. Dynamische Methoden sind daher den elementaranalytischen Verfahren vorzuziehen.



## 6 Ergebnisse und Diskussion

### 6.1 Synthese neuer zwitterionischer Monomere

Der Schwerpunkt dieser Arbeit liegt in der Herstellung und Charakterisierung diverser zwitterionischer stationärer Phasen und deren Charakterisierung mittels ZIC- und ZIC-HILIC-Trennungen. Bevor die chromatographischen Untersuchungen jedoch durchgeführt werden können, müssen die Austauschermaterialien zunächst reproduzierbar und mit vergleichbaren Eigenschaften hergestellt werden. Wie bereits gezeigt werden konnte, verläuft die Synthesestrategie für die zwitterionischen stationären Phasen über zwei separate Teilschritte (siehe Abbildung 6.1).

Der erste Teilschritt besteht in der Synthese der zwitterionischen Vorläufermoleküle, die bereits die funktionellen Gruppen tragen und eine Möglichkeit der Anbindung an das Grundmaterial bieten. Danach folgt die Pfropfpolymerisation, über welche die Anbindung der Vorläufermoleküle an die PS/DVB-Trägerpartikel mittels radikalischer Addition erreicht wird.

Die Darstellung der monomeren zwitterionischen Vorläufermoleküle – auch Ionomere genannt – gelingt jedoch häufig nicht in nur einem Reaktionsschritt, sondern Teilschritt 1 der Austauschersynthese gliedert sich meist in zwei bis drei Einzelreaktionen. Für die Synthesepanung sind grundsätzlich einige Grundvoraussetzungen von Bedeutung:

- möglichst wenige Einzelreaktionen
- geringe Kosten der Edukte
- Einführung der polymerisierbaren Funktion möglichst spät im Herstellungsprozess

Diese Punkte zielen letztlich auf eine hohe Effizienz und eine spätere, kommerzielle Realisierbarkeit der Synthesen ab. Besonders der dritte Punkt ist häufig über eine überlegte Synthesepanung zu erreichen und reduziert den Einsatz von Schutzgastechniken auf ein Mindestmaß.

Die Herstellung der – im Rahmen dieser Arbeit eingesetzten – zwitterionischen Vorläufermoleküle, also die Einzelreaktionen des Teilschritts 1 für alle Ionomere mit unterschiedlichen Abständen zwischen den Ladungen, sollen in den nachfolgenden Abschnitten behandelt werden. Bei dem mit *Spacer* (Abstandsgruppe) bezeichneten Molekül aus Abbildung 6.1 handelt es sich, bei

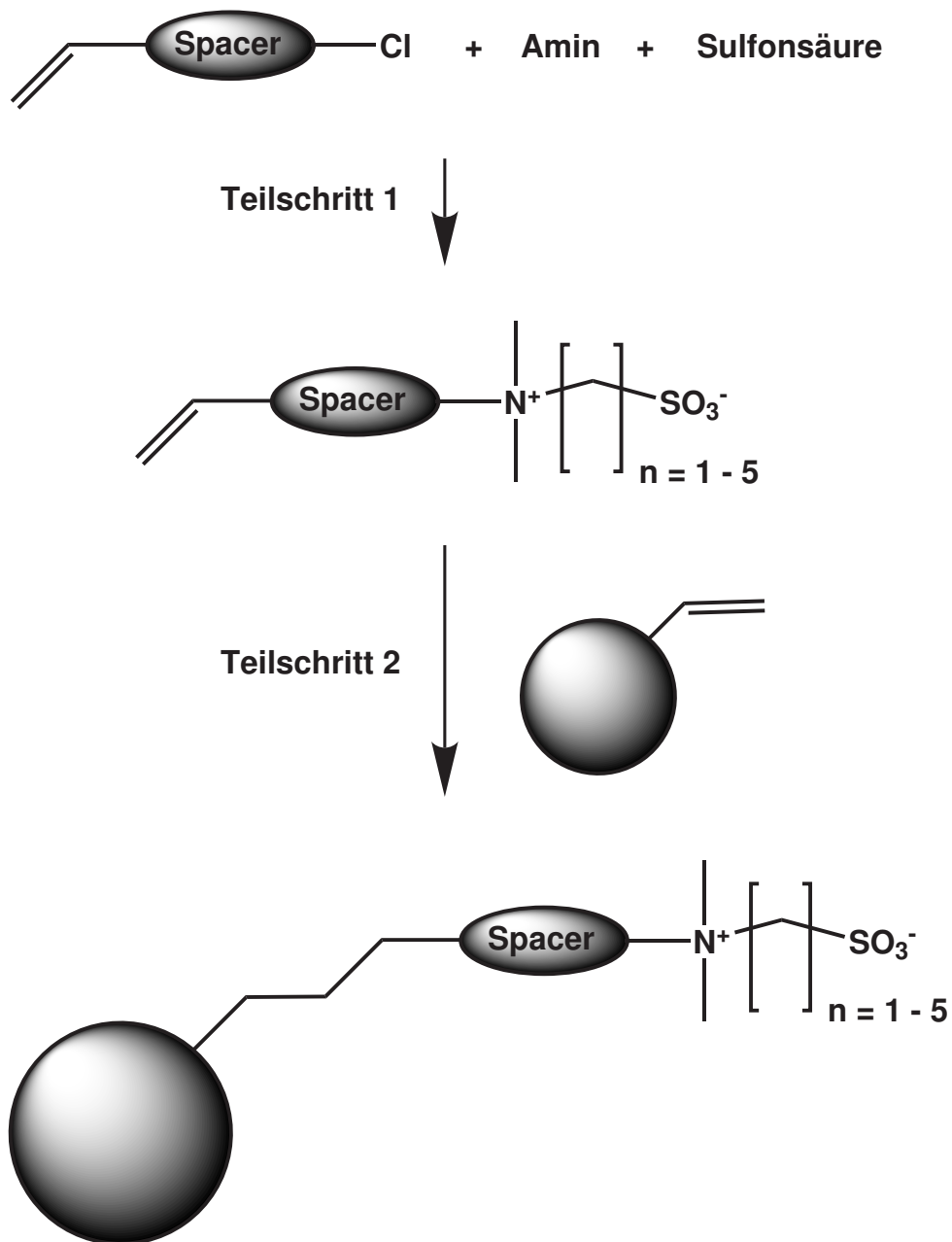


Abbildung 6.1: Schematischer Reaktionsverlauf der Herstellung zwitterionischer stationärer Phasen.

allen hergestellten Ionomeren, um 4-Vinylbenzylchlorid. Die geplanten zwitterionischen Monomere mit Sulfobetainstruktur weisen daher die in Abbildung 6.2 gezeigten Strukturen auf:

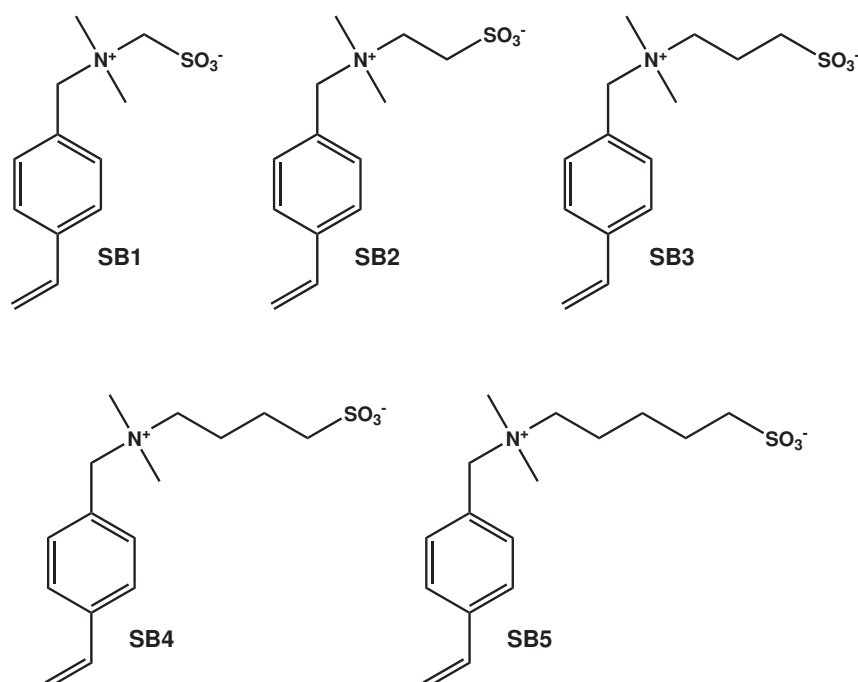


Abbildung 6.2: Strukturen der geplanten Sulfobetainmonomere **SB1** bis **SB5**.

Neben stationären Phasen mit Sulfobetainstruktur sind auch Austauscher mit inverser Sulfobetainstruktur oder aber mit Carboxybetainstruktur denkbar (siehe Abbildung 6.3).

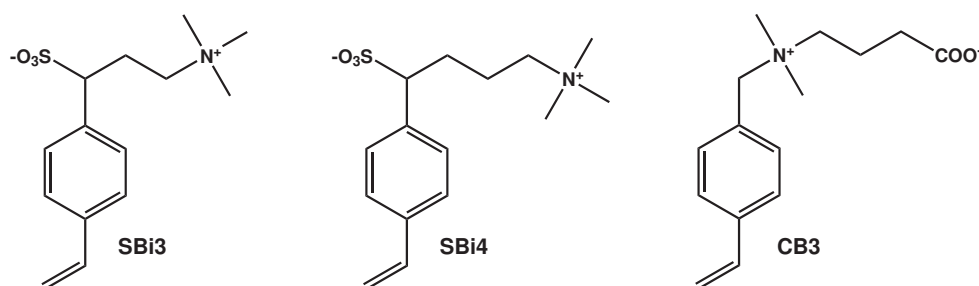


Abbildung 6.3: Struktur der geplanten Monomere mit inverser Sulfobetainstruktur (**SBi3**, **SBi4**) sowie mit Carboxybetainstruktur (**CB3**).

Diese sollten den gezeigten Sulfobetain-austauschern möglichst ähnlich sein. Ideal wären damit Ionomere, bei denen alle Abstände der funktionellen Gruppen untereinander vergleichbar sind. Bei den inversen Sulfobetainmonomeren ist es, aufgrund der innenliegenden Sulfonsäuregruppen, jedoch nicht möglich, diese in die Kette zu integrieren (so wie es mit dem Amin der Sulfobetainmonomere der Fall ist). Dennoch sollten zumindest die Abstände der Sulfonsäuregruppe zum Amin sowie zum Spacer vergleichbar sein. Das Carboxybetainmonomer unterscheidet sich lediglich durch den Austausch der Sulfonsäuregruppe durch eine Carbonsäurefunktion von den

Sulfobetain austauschern. Die Abstände zwischen den Ladungen sind für das abgebildete **CB3**-Ionomer identisch zum **SB3**-Ionomer, wobei das Carbonsäure-C-Atom nicht zur Kette zwischen den Ladungen gezählt wird.

Die Verwendung von 4-Vinylbenzylchlorid (VBC) als Abstandshalter hat sich in diversen vorangegangenen Arbeiten<sup>[118][37][39]</sup> als vorteilhaft erwiesen. Zum einen ist damit die spätere radikalische Addition der Iomere an das PS/DVB-Grundmaterial sehr gut möglich, zum anderen ermöglicht das benzyliche Chloratom die einfache Anbindung tertiärer Amine über nucleophile Substitutionsreaktionen.

### 6.1.1 Herstellung des Sulfobetainmonomers **SB1**

Diese nucleophilen Substitutionsreaktionen spielen für den gesamten Herstellungsprozess des Sulfobetains mit einer Methylengruppe zwischen den Ladungen (**SB1**) eine entscheidende Rolle. Die Herstellung wird nach einer Vorschrift von *King* und *Skonieczny*<sup>[124]</sup> in Verbindung mit den Vorschriften von *Raskop*<sup>[37]</sup> durchgeführt (siehe Abbildung 6.4).

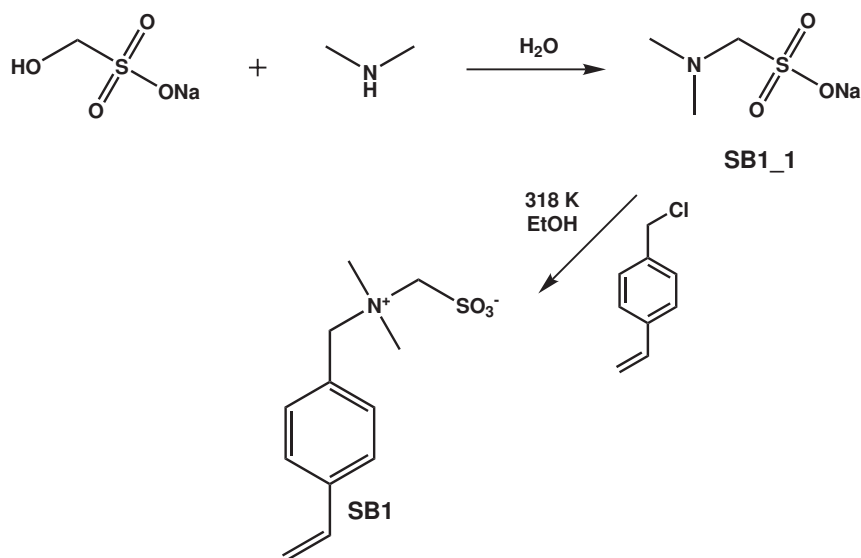


Abbildung 6.4: Syntheseroute für die Herstellung des Sulfobetainmonomers mit einer Methylengruppe zwischen den Ladungen (**SB1**).

Als Edukte werden zunächst Hydroxymethansulfonsäure Natriumsalz sowie Dimethylamin eingesetzt. Entsprechend der Literaturvorschrift für die erste Reaktionsstufe<sup>[124]</sup> wird das Hydroxymethansulfonsäure Natriumsalz in wässriger Lösung vorgelegt und mit Eis gekühlt. Durch langsames Zutropfen eines Überschusses von 1,15 Äquivalenten (eq) Dimethylaminlösung (40% in Wasser) kommt es zu einer nucleophilen Substitution der Alkohol-Funktion durch das sekundäre Amin. Dabei bildet sich das tertiäre Amin *N,N*-Dimethylaminomethansulfonat (**SB1\_1**) in

einer schnellen Reaktion unter Wärmeentwicklung. Nach erfolgter Zugabe des Dimethylamins ist die Reaktion nach Entfernen des Eisbades und einer Stunde Rührens bei Raumtemperatur quantitativ abgelaufen.

Da bei der Reaktion lediglich Dimethylamin im Überschuss eingesetzt wird und als Nebenprodukt Wasser entsteht, ist eine Aufreinigung des tertiären Amins nicht erforderlich. Das Lösungsmittel und überschüssiges Dimethylamin können unter vermindertem Druck entfernt werden. Das Produkt wird als farbloser Feststoff isoliert und kann mittels NMR-Spektroskopie untersucht werden.

Im zweiten Reaktionsschritt erfolgt eine weitere nucleophile Substitution. Da das Produkt dieser Reaktion ein Styrolderivat darstellt und damit zur Polymerisation befähigt ist, wird dieser Reaktionsschritt unter Stickstoffatmosphäre durchgeführt. Hierbei wird das Zwischenprodukt als Lösung in Ethanol/Wasser (1:1) unter Eiskühlung zu einer ethanolischen Lösung von 4-Vinylbenzylchlorid getropft. Bei dieser Reaktion werden beide Reaktionspartner in äquimolaren Mengen eingesetzt, die Eiskühlung soll eine zu hohe initiale Wärmeentwicklung beim Zusammentreffen der Reaktanden verhindern. Im Gegensatz zur ersten Reaktionsstufe des Sulfobetains **SB1** verläuft die nucleophile Substitution des Chloratoms des VBC durch das tertiäre Amin **SB1\_1** etwas langsamer. Dieses Verhalten war aufgrund des höheren sterischen Anspruchs des tertiären Amins – im Gegensatz zum sekundären Amin in der ersten Reaktion – zu erwarten.

Durch Erwärmen des Reaktionsgemisches auf 318 K kann nach 24 Stunden Rührens ein quantitativer Umsatz der Reaktanden zum gewünschten Produkt 4-Vinylbenzyl-dimethylammonio-methansulfonat (**SB1**) erreicht werden. Da im letzten Reaktionsschritt ein Chloratom substituiert wird, liegt die Annahme nahe, dass das Produkt neben dem  $\text{Na}^+$  als Gegenion für die Sulfonsäurefunktion ein  $\text{Cl}^-$  als Gegenion für das quartäre Amin trägt.

Auch bei dieser Reaktion ist in der Regel keine Aufreinigung des Produktes notwendig. Durch Entfernen der Lösungsmittel unter vermindertem Druck wird das gewünschte Ionomer als farbloser Feststoff erhalten, der wiederum mittels Elementaranalyse und NMR-Spektroskopie untersucht werden kann. Sollte das Produkt durch einen evtl. vorhandenen Überschuss an 4-Vinylbenzylchlorid noch leicht gelblich gefärbt sein, kann eine Aufreinigung durch Waschen des Feststoffs mit Acetonitril durchgeführt werden. Das Produkt **SB1** sollte unter Stickstoffatmosphäre bei 248 K gelagert werden.

### 6.1.2 Herstellung des Sulfobetainmonomers SB2

Die Herstellung des Ionomers mit zwei Methylengruppen zwischen Amin und Sulfonsäure (4-Vinylbenzyl-dimethylammonioethansulfonat, **SB2**) gelingt ebenfalls über zwei nucleophile Reaktionen (siehe Abbildung 6.5).

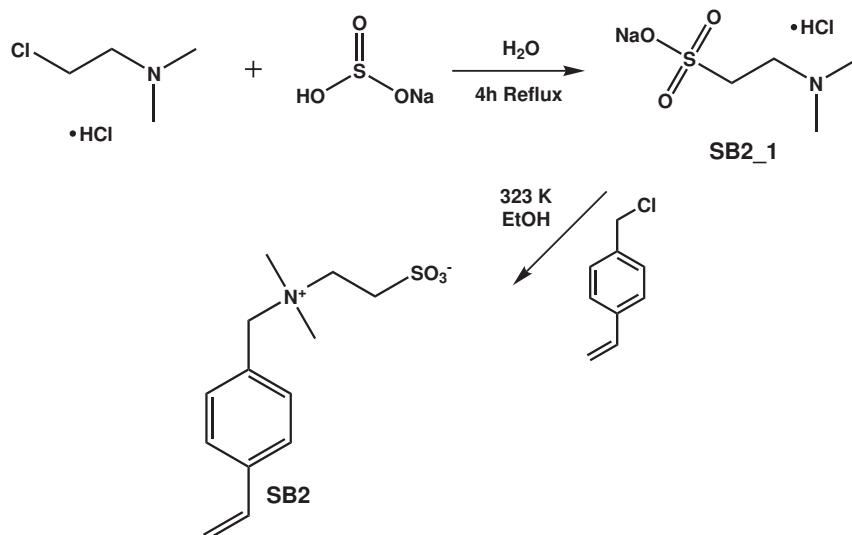


Abbildung 6.5: Syntheseroute für die Herstellung des Sulfobetainmonomers mit zwei Methylengruppen zwischen den Ladungen (**SB2**).

Im ersten Reaktionsschritt wird in Anlehnung an die Literaturvorschrift von *Palmi et al.*<sup>[124]</sup> 2-Chloro-*N,N*-dimethylethylamin-hydrochlorid mit Natriummetabisulfit ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$ , auch Natriumdisulfit genannt) umgesetzt. Die beiden Reaktanden werden in wässrige Lösung gebracht und für vier Stunden zum Sieden erhitzt. Nach Abkühlen der Lösung wird diese mit einem stark sauren Kationenaustauscher in der  $\text{H}^+$ -Form versetzt, um überschüssiges Natriumhydrogensulfit zur instabilen schwefeligen Säure umzusetzen. Diese zerfällt in wässrigem Milieu zu Wasser und  $\text{SO}_2$ . Wird das Reaktionsgemisch inklusive Kationenaustauscher unter vermindertem Druck bis zur Trockne eingedampft, kann das überschüssige Natriumhydrogensulfit in Form von  $\text{SO}_2$  – welches gasförmig vorliegt – entfernt werden. Durch Spülen des Kationenaustauschers mit Essigsäure über eine Glasfilterfritte kann das *N,N*-Dimethyltaurin-hydrochlorid (**SB2\_1**) als Natriumsalz isoliert werden. Das Entfernen der Lösungsmittel unter vermindertem Druck liefert einen farblosen Feststoff mit einer Ausbeute von 84%.

In der Originalvorschrift von *Palmi et al.*<sup>[124]</sup> wurde die Umsetzung unter Verwendung von einem Äquivalent Natriumhydrogensulfit – anstelle von Natriummetabisulfit – erreicht. Nach zwei Stunden des Siedens und anschließender Aufreinigung lag die Ausbeute bei 58%. Ziel der Literaturvorschrift war es allerdings, das *N,N*-Dimethyltaurin (**SB2\_1**) als freie Sulfonsäure zu erhalten, was im Rahmen dieser Arbeit nicht notwendig ist. Aus diesem Grund war die Aufreinigungsprozedur der Originalvorschrift etwas komplexer, da das  $\text{Na}^+$  als Gegenion der Sulfonsäure



durch eine chromatographische Trennung über größere Mengen an Kationenaustauschermaterial vollständig entfernt werden musste. Dies erklärt jedoch nur zum Teil die geringere Ausbeute in der Literaturvorschrift.

Weiter bleibt zu berücksichtigen, dass *Palmi et al.*<sup>[124]</sup> nur ein Äquivalent Natriumhydrogensulfit eingesetzt haben, nach zwei Stunden Reaktionszeit jedoch noch unumgesetztes  $\text{NaHSO}_3$  vorlag. Die Autoren verweisen in ihrer Veröffentlichung auf die nicht ideale Nucleophilie des  $\text{NaHSO}_3$  und schlagen die Verwendung von  $\text{Na}_2\text{SO}_3$  bzw. die Reaktionsführung bei höheren pH-Werten vor. Sulfit sollte das bessere Nucleophil darstellen, einen Beweis bleiben die Autoren jedoch schuldig.

Die unzureichende Umsatzrate lässt jedoch noch eine weitere Optimierungsmöglichkeit zu. So kann grundsätzlich versucht werden, durch Konzentrationserhöhung eines Reaktanden, die Reaktion weiter auf Seite des Produkts zu verschieben. Aus diesem Grund wird die Literaturvorschrift abgewandelt indem ein Äquivalent Natriummetabisulfit eingesetzt wird.  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  reagiert mit Wasser unter Hydrolyse leicht zu Natriumhydrogensulfit. Der Einsatz eines Äquivalents  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  entspricht somit zwei Äquivalenten  $\text{NaHSO}_3$ .

Bei einer Reaktionszeit von zwei Stunden führt diese Änderung der Reaktionsführung jedoch immer noch nur zu etwa 80% Umsatz. Im NMR-Spektrum können noch 20% nicht umgesetztes 2-Chloro-*N,N*-dimethylethylamin-hydrochlorid nachgewiesen werden. Aus diesem Grund wird die Reaktionszeit von zwei auf vier Stunden verdoppelt. Nach dieser Zeit, und anschließender Aufreinigung bzw. Abtrennung überschüssigen Natriumhydrogensulfits, ist kein Edukt mehr vorhanden. Die Ausbeute der Reaktion konnte somit von 58% (freie Sulfonsäure) auf 84% (Natriumsalz der Sulfonsäure) gesteigert werden.

Im zweiten Reaktionsschritt wird das erhaltene tertiäre Amin in einer Lösung aus Ethanol/Wasser (1:1) mit einem Äquivalent 4-Vinylbenzylchlorid zum 4-Vinylbenzyl-dimethylammonioethansulfonat (**SB2**) umgesetzt. Anders als bei den von *Raskop*<sup>[37]</sup> durchgeführten Synthesen liegt das tertiäre Amin jedoch als Hydrochlorid vor. Zwar bieten Hydrochloride von Aminen meist bessere Wasserlöslichkeiten als die freien Amine, sie sind jedoch auch deutlich weniger nucleophil. Gerade beim Einsatz in der nucleophilen Substitution des Chloratoms von 4-Vinylbenzylchlorid ist dies jedoch problematisch.

So kann nach 18 Stunden Reaktionszeit bei 310 K keinerlei Umsatz beobachtet werden, und auch eine Temperaturerhöhung auf 323 K führt nach weiteren 18 Stunden nicht zur Reaktion. Um diese Problematik zu umgehen, muss somit zunächst das freie Amin bereitgestellt werden. Dies geschieht durch Zugabe eines Überschusses an konzentriertem Ammoniak. Dieser fängt die Hydrochloride ab und reagiert selbst zu Ammoniumchlorid. Ammoniak wird hierbei als

Base gewählt, da Ammoniumchlorid im Hochvakuum durch Sublimation vom Produkt entfernt werden kann.

Die Reaktionsführung wird also dahingehend abgeändert, dass 4-Vinylbenzylchlorid in ethanolischer Lösung vorgelegt und unter Eiskühlung eine Lösung von **SB2** und Ammoniak in Ethanol/Wasser (1:1) zugetropft wird. Im Anschluss wird die Reaktionsmischung für 18 Stunden auf 323 K erwärmt. Nach Entfernen der Lösungsmittel unter vermindertem Druck kann das erhaltene Produkt mit Acetonitril gewaschen werden. 4-Vinylbenzyl-dimethylammonioethansulfonat (**SB2**) wird in einer Ausbeute von 80% isoliert. Die Lagerung des Produktes sollte unter Stickstoffatmosphäre bei maximal 248 K erfolgen.

### 6.1.3 Herstellung des Sulfobetainmonomers **SB3**

Bei der Synthese des Sulfobetains **SB3** kommen – ebenso wie beim Sufobetain **SB4** – auch nucleophile Substitutionsreaktionen zum Einsatz. Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Synthesen liegt die Sulfonsäure jedoch als Sulton, d. h. als ringförmige Verbindung vor (siehe Abbildung 6.6).

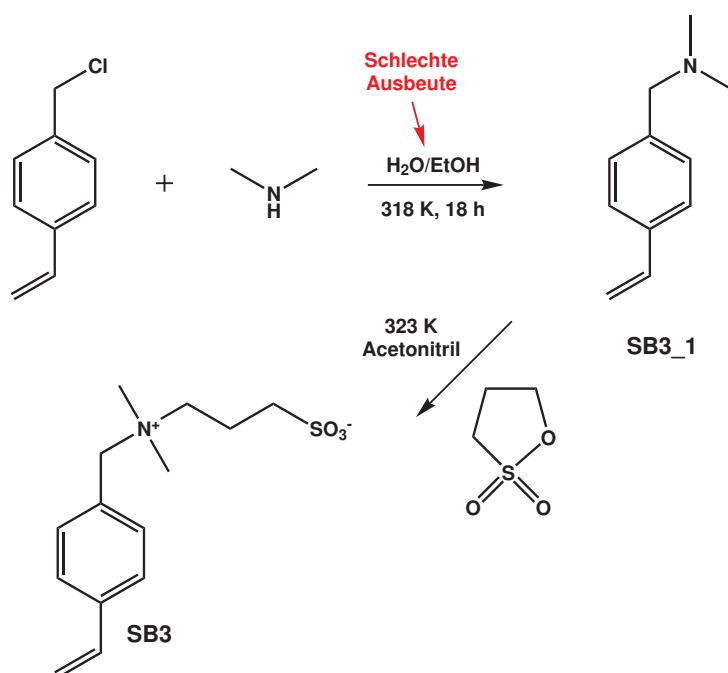


Abbildung 6.6: Syntheseroute für die Herstellung des Sulfobetainmonomers mit drei Methylen-  
gruppen zwischen den Ladungen (**SB3**).

Die gesamte Reaktion verläuft in Anlehnung an die Austauscherherstellung von *Jiang* und *Irgum*<sup>[108]</sup>. Die Autoren verwendeten ein 2-Hydroxyethylmethacrylat-Polymer dessen freie OH-Gruppen zunächst mit Thionylchlorid in das entsprechende Chlorid umgewandelt wurden. Da der

Aufbau polymeranalog, d. h. an der festen Phase, erfolgte, bot sich die direkte Substitution des Chlorids mit Dimethylamin an. Dies war besonders deshalb sinnvoll, weil im letzten Reaktionsschritt 1,3-Propansulton in einer nucleophilen Substitution mit Ringöffnung umgesetzt wurde. Das – am Polymer vorliegende – tertiäre Amin griff dabei am Sulton an und erzeugte in einem Schritt aus zwei ungeladenen Molekülen eine kovalente Bindung mit quartärnisierter Amin und freier Sulfonsäure. Da sich alle Reaktionen am Polymer abspielten, waren lange Reaktionszeiten und hohe Reaktionstemperaturen möglich (da nicht die Gefahr der ungewollten Polymerisation bestand) bzw. nötig (da die Reaktion an der Festphase sterisch anspruchsvoll war).

In dieser Arbeit müssen die Reaktionen nun vom Polymer – d. h. von der heterogenen Phase – in Lösungsreaktionen übertragen werden. Reaktionen von sekundären Aminen mit Chloralkanen konnten bereits in Lösung gezeigt werden. Auch die Umsetzung von tertiären Aminen mit Sultonen ist seit geraumer Zeit literaturbekannt<sup>[125]</sup>. Im ersten Reaktionsschritt wird somit das 4-Vinylbenzylchlorid mit Dimethylamin umgesetzt, um das tertiäre Amin direkt am aromatischen Rest zu erzeugen. Hierzu wird unter Inertgasatmosphäre 4-Vinylbenzylchlorid in ethanolischer Lösung vorgelegt, während unter Eiskühlung ein Überschuss (2,4 Äquivalente) an Dimethylaminlösung zugetropft wird. Im Anschluss wird das Reaktionsgemisch für 18 Stunden auf 318 K erwärmt. Nachdem die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt wurden, muss das Produkt in Chloroform gelöst und zweimal mit Wasser gewaschen werden. Erneutes Entfernen der organischen Phasen unter vermindertem Druck und Filtration des dünnflüssigen, gelben Rückstands führt zum reinen Produkt. 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (**SB3\_1**) wird als gelbe Flüssigkeit in einer Ausbeute von 62% erhalten.

Der Grund für die geringe Ausbeute liegt vermutlich in der Bildung des entsprechenden 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin-hydrochlorids. Mit dem durch Substitution freiwerdenden  $\text{Cl}^-$  kommt es trotz des basischen Milieus (Überschuss an Dimethylamin) zur Bildung des Hydrochlorids, welches im Anschluss durch das Waschen des Rohproduktes mit Wasser zum Großteil in die wässrige Phase übergeht. Nach Entfernen des organischen Lösungsmittels fallen die im Produkt verbliebenen Reste des Hydrochlorids – aufgrund ihrer Ladung und damit deutlich höheren Polarität – aus und können durch Filtration abgetrennt werden. Bei dieser Reaktion ist eine Ausbeutesteigerung durch Zugabe einer Base – analog der Synthese des Sulfobetains **SB2** unter Zugabe von Ammoniak – nicht erfolgreich. Weder die Zugabe von Ammoniak noch die Zugabe von Natronlauge verbessern die Ergebnisse. Zumindest kann das Hydrochlorid jedoch im Rahmen der Aufreinigung vollständig entfernt werden (gesichert durch NMR-Spektroskopie) und wirkt sich daher nicht negativ auf den nächsten Reaktionsschritt aus.

Dieser nächste Schritt besteht in der Umsetzung des tertiären Amins **SB3\_1** mit 1,3-Propan-sulton. Die Reaktanden werden – ebenfalls unter Inertgasbedingungen – in äquimolaren Mengen in Acetonitril gelöst und unter Zusatz geringer Mengen Polymerisationsinhibitor (4-*tert*-

Butylbrenzcatechin) für 48 Stunden auf 323 K erwärmt. Das Produkt fällt unter diesen Bedingungen als farbloser Niederschlag aus. Um evtl. in der organischen Phase verbliebenes Produkt nicht zu verlieren, wird das Lösungsmittel zunächst unter vermindertem Druck entfernt und der Feststoff im Anschluss über eine Glasfilterfritte mit Acetonitril gewaschen. 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniopropansulfonat (**SB3**) wird als farbloser Feststoff mit einer Ausbeute von 84% erhalten und sollte unter Inertgasatmosphäre bei maximal 248 K gelagert werden.

#### 6.1.4 Herstellung des Sulfobetainmonomers **SB4**

Die Herstellung des 4-Vinylbenzyl-dimethylammonibutansulfonats (**SB4**) verläuft analog zur Synthese des Sulfobetains **SB3** (siehe Abbildung 6.7).

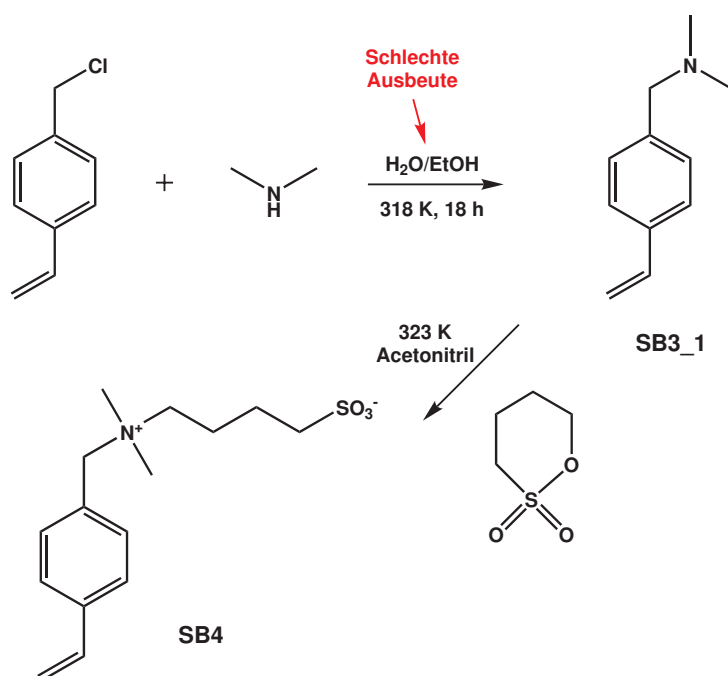


Abbildung 6.7: Syntheseroute für die Herstellung des Sulfobetainmonomers mit vier Methylen-  
gruppen zwischen den Ladungen (**SB4**).

Als Edukte werden 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (**SB3\_1**) sowie 1,4-Butansulton eingesetzt, die genau wie im Falle des **SB3**-Ionomers behandelt und aufgearbeitet werden. Die Ausbeute an 4-Vinylbenzyl-dimehtylammonibutansulfonat (**SB4**) liegt mit 85% in der gleichen Größenordnung, wie die des Sulfobetains **SB3**. Die Reaktivitäten der Sultone unterscheiden sich demnach nicht signifikant.

### 6.1.5 Herstellung des Sulfobetainmonomers SB5

Im Gegensatz zu den bisher beschriebenen Synthesen verläuft die Herstellung des Sulfobetainmonomers **SB5** nicht in zwei, sondern in drei Reaktionsschritten (siehe Abbildung 6.8). Der Grund hierfür liegt darin, dass weder das  $\omega$ -halogenierte Dimethylaminopentan noch die  $\omega$ -halogenierte Pentansulfonsäure kommerziell erhältlich sind. Dies macht die Herstellung des Ionomers zur schwierigsten der bislang gezeigten Synthesen.

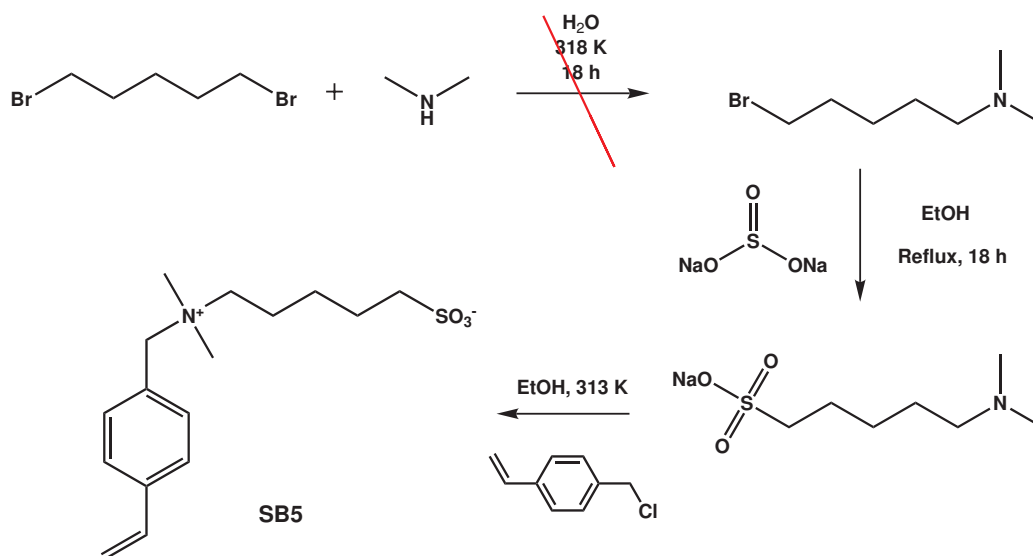


Abbildung 6.8: Erste Syntheseroute für die Herstellung des Sulfobetainmonomers mit fünf Methylengruppen zwischen den Ladungen (**SB5**).

Grundsätzlich muss die Synthese über zwei getrennte nucleophile Substitutionsreaktionen an 1,5-Dibrompentan verlaufen. Hierbei kann in einem ersten Schritt entweder das tertiäre Amin erzeugt werden, oder es kann die Sulfonsäurefunktion eingebracht werden. Bei beiden Ansätzen liegt die Problematik in den zwei Brom-Atomen, die beide für die gleichen Substitutionsreaktionen zur Verfügung stehen. Es muss also ein Weg gefunden werden, pro Molekül nur eine der beiden Bromfunktionalitäten umzusetzen.

Zunächst wird versucht, die Reaktion des 1,5-Dibrompentans mit Dimethylamin zum tertiären Amin zu realisieren. Das 1,5-Dibrompentan wird dabei in ethanolischer Lösung unter Eiskühlung vorgelegt. Zu dieser Lösung wird unter Rühren langsam ein Unterschuss an Dimethylaminlösung (0,5 Äquivalente bezogen auf die Menge an 1,5-Dibrompentan) zutropft. Das Zutropfen unter Eiskühlung erfolgt analog den bisher durchgeführten Aminierungen. Nach erfolgter Zugabe wird das Reaktionsgemisch für 24 Stunden unter Rühren auf  $333\text{ K}$  erwärmt. Nach dem Entfernen der Lösungsmittel unter vermindertem Druck zeigen NMR-spektroskopische Untersuchungen ein Gemisch aus drei Spezies. Bei diesen handelt es sich um nicht umgesetztes, einfach umgesetztes sowie doppelt umgesetztes 1,5-Dibrompentan.

Unter diesen Reaktionsbedingungen kann also kein deutlicher Überschuss des einfach umgesetzten Produktes erzielt werden. Der Grund hierfür wird in erster Linie in der Zugabe unter Eiskühlung zu finden sein. Zwar führt das Zutropfen eines sekundärenamins zur Lösung eines Halogenalkans grundsätzlich zur exothermen nucleophilen Reaktion, die Eiskühlung scheint einen sofortigen Umsatz des Dimethylamins mit 1,5-Dibrompentan jedoch zu verhindern. Wird ein derartiges, reaktives Reaktionsgemisch nun langsam erwärmt, wird es allmählich zur Reaktion der Reaktanden kommen. Diese wird – auch bei Überschuss des Dihalogenalkans – statistisch verlaufen, weshalb es zum Vorhandensein aller drei Spezies kommt.

Eine einfache Aufreinigung des Produkt/Edukt-Gemisches und somit eine Extraktion des gewünschten Moleküls ist aufgrund der chemischen Ähnlichkeiten der drei Spezies auch nicht unproblematisch möglich. Eine Extraktion aufgrund von Polaritätsunterschieden scheidet von vornherein aus. Zwar tragen das ein- und zweifach umgesetzte Produkt Aminfunktionalitäten und könnten daher möglicherweise bei bestimmten pH-Werten vom Edukt getrennt werden, die Ähnlichkeit dieser beiden Moleküle untereinander ist jedoch sehr hoch. Bei derart ähnlichen Molekülen bietet sich grundsätzlich die Aufreinigung über eine säulenchromatographische Trennung an Kieselgel an. Diese ist für das vorhandene Trennproblem auch grundsätzlich geeignet, jedoch liegen die Produkte und das Edukt in etwa gleichen Teilen im Reaktionsgemisch vor. Selbst bei verlustfreier chromatographischer Trennung könnte demnach maximal eine Ausbeute von 33% erzielt werden.

Bevorzugt wird daher eine Reaktionsführung, bei der es sofort beim Eintropfen des Nucleophils zur Reaktion mit dem Halogenalkan und damit zur Bildung des gewünschten Produktes als Hauptprodukt kommt. Aus diesem Grund wird dieselbe Reaktion unter Zutropfen des Dimethylamins zu einer bei Raumtemperatur gerührten Lösung von 1,5-Dibrompentan in Ethanol durchgeführt. Auch diese Reaktionsführung liefert nach 24 Stunden Rührens bei 333 K (nach beendetem Zutropfen erwärmt) in der NMR-spektroskopischen Untersuchung ein Gemisch aus drei Spezies mit ähnlichen molaren Konzentrationen. Dasselbe Ergebnis wird beobachtet, wenn anstelle des Dimethylamins direkt das 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (**SB3\_1**) eingesetzt wird.

Eine weitere Variation, um das Gleichgewicht in Richtung des gewünschten Produktes zu verschieben, wäre die Zugabe von Dimethylamin oder 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (**SB3\_1**) zu einer auf 333 K erwärmten oder sogar zu einer siedenden Lösung von 1,5-Dibrompentan. Im Falle des **SB3\_1** ist dabei jedoch die Gefahr der ungewollten Polymerisation sehr hoch. Im Falle des Dimethylamins spricht der hohe Dampfdruck in Wasser gegen eine solche Vorgehensweise. Der Versuch der Umsetzung des 1,5-Dibrompentans mit einem Amin als ersten Reaktionsschritt wird daher verworfen.

Wie bereits geschildert, ist auch die Umsetzung des 1,5-Dibrompentans mit einem Sulfit zu 5-Brompentan-1-sulfonat (**SB5\_1**) denkbar (siehe Abbildung 6.9). Das Problem des hohen Dampfdrucks des Dimethylamins kann dadurch umgangen werden, weshalb die Zugabe des Sulfits zu einer siedenden Lösung von 1,5-Dibrompentan in Ethanol möglich ist. Diese Reaktion ist für verschiedene Dibromalkane mit zwei bis sechs Methylengruppen zwischen den Bromiden bereits literaturbekannt<sup>[126][127]</sup>.

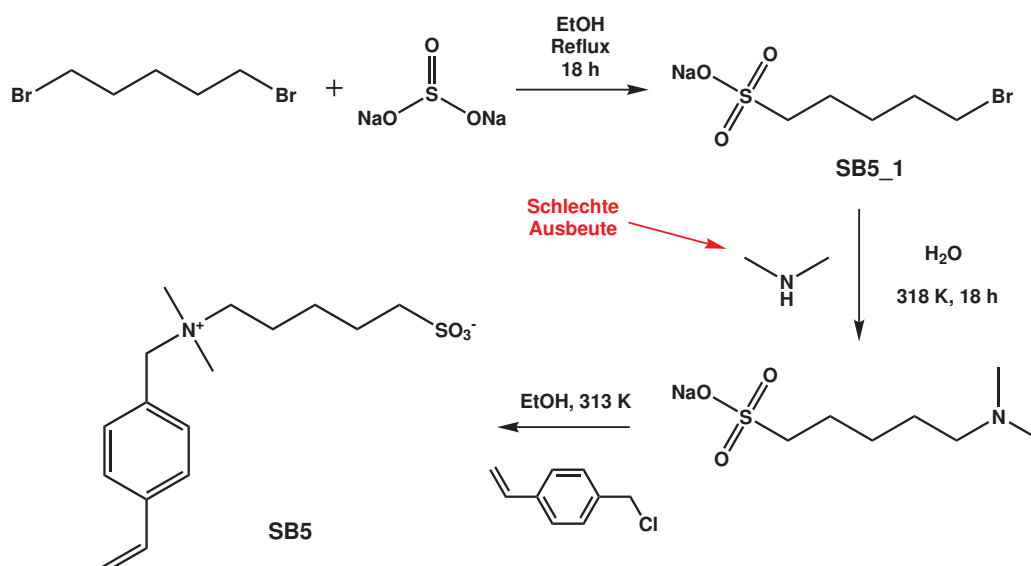


Abbildung 6.9: Geänderte Syntheseroute für die Herstellung des Sulfobetainmonomers mit fünf Methylengruppe zwischen den Ladungen (**SB5**).

Wird das Sulfit langsam zu einer gerührten, siedenden Lösung des Dihalogenalkans getropft, sollte die nucleophile Substitution des Broms durch die Sulfonsäure sehr schnell ablaufen. Auch bei dieser Reaktion muss wieder ein Überschuss des Dihalogenalkans vorgelegt werden, damit die Reaktion des Sulfits mit einem noch nicht umgesetzten 1,5-Dibrompentan wahrscheinlicher ist, als die Umsetzung eines bereits sulfonierten Moleküls. Es werden 3,3 Äquivalente 1,5-Dibrompentan vorgelegt und unter Rühren eine Lösung von Natriumsulfit in Wasser über einen Zeitraum von zwei Stunden zugetropft. Da Bromalkane unter Einwirkung von Licht zur Zersetzung neigen, wird das Reaktionsgemisch für den gesamten Reaktionsverlauf unter Ausschluss von Licht gehalten.

Nach der erfolgten Zugabe wird das Gemisch für weitere 18 Stunden unter Rühren zum Sieden erhitzt. Im Anschluss daran werden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Ein feuchter orangefarbener Rückstand bleibt zurück. Das einfach umgesetzte Produkt kann mithilfe einer *Soxhlet*-Extraktion mit Ethanol von dem als Nebenprodukt entstandenen Natriumbromid abgetrennt werden. Nach erneuter Entfernung des Lösungsmittels wird das 5-Brompentan-1-sulfonat (**SB5\_1**) als orangefarbener Feststoff in einer Ausbeute von 65% erhalten. Durch die

geänderte Reaktionsführung kann eine zweifache Umsetzung des 1,5-Dibrompentans erfolgreich verhindert werden. Eine säulenchromatographische Aufreinigung ist nicht notwendig.

Das Reaktionsschema aus Abbildung 6.9 sieht im Anschluss an die Herstellung des Monomervorläufers **SB5\_1** eine Umsetzung mit Dimethylamin gefolgt von einer Umsetzung des tertiärenamins mit 4-Vinylbenzylchlorid vor. Diese Reaktionsfolge wurde durchgeführt und liefert das gewünschte Produkt. Ähnlich der Umsetzung von 4-Vinylbenzylchlorid leidet jedoch auch die Reaktion von 5-Brompentan-1-sulfonat (**SB5\_1**) mit Dimethylamin an der Bildung des Hydrobromids und damit einhergehend an einer geringen Ausbeute. Besonders die Tatsache, dass bereits die Synthese von **SB5\_1** den Einsatz großer Mengen an 1,5-Dibrompentan erfordert (Überschuss) legt eine Optimierung der Reaktionsführung nahe.

Wünschenswert ist es, das Vorläufermolekül **SB5\_1** mit einer möglichst hohen Gesamtausbeute zum Ionomer **SB5** umzusetzen. Die Erfahrungen aus den Synthesen der Ionomere **SB3** und **SB4** sind diesbezüglich sehr hilfreich. Bei diesen Herstellungsreaktionen wurde zunächst das 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (**SB3\_1**) mit geringen Ausbeuten hergestellt. Da 4-Vinylbenzylchlorid als Edukt dieser Reaktion kommerziell erhältlich ist, kann eine schlechte Ausbeute bei dieser Reaktion in Kauf genommen werden. Die Folgereaktionen zu den Ionomeren **SB3** und **SB4** verliefen dann wieder mit Ausbeuten von 84% und 85%.

Somit liegt es nahe, auch die Herstellung des Ionomers **SB5** dahingehend zu vereinfachen, dass das Zwischenprodukt **SB5\_1** direkt mit dem Zwischenprodukt **SB3\_1** zur Reaktion gebracht wird (siehe Abbildung 6.10).

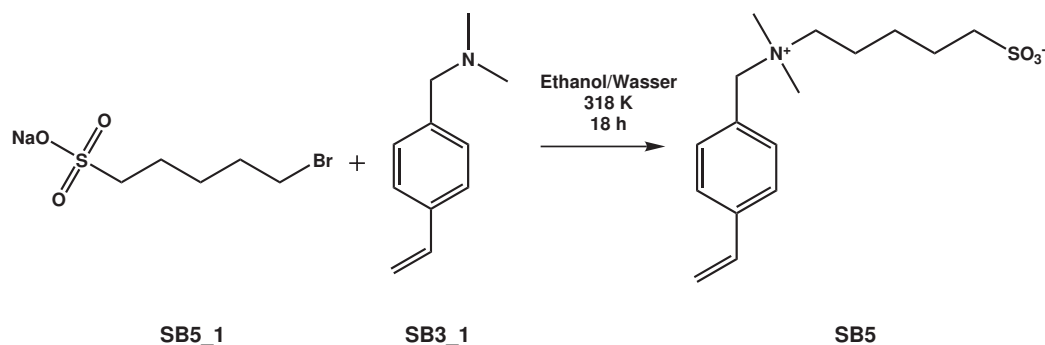


Abbildung 6.10: Vereinfachte Syntheseroute für die letzten Reaktionsschritte der Herstellung von 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniopentansulfonat (**SB5**).

Unter Inertgasatmosphäre werden äquimolare Mengen **SB5\_1** und **SB3\_1** unter Eiskühlung in einer Portion in einem Lösungsmittelgemisch aus Ethanol/Wasser (1:1) zusammengegeben. Im Anschluss wird das Reaktionsgemisch für 18 Stunden unter Rühren auf 318 K erwärmt und die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Analog der zuvor genannten Reaktionen kann das Produkt mit Acetonitril gewaschen werden. 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniopentansulfonat (**SB5**) wird als farbloser Feststoff in einer Ausbeute von 81% (ebenfalls vergleichbar



mit **SB3** und **SB4**) erhalten und sollte unter Inertgasatmosphäre bei maximal 248 K gelagert werden.

### 6.1.6 Herstellung des inversen Sulfobetainmonomers **SBi3**

Noch komplexer als die Synthese des Sulfobetainmonomers **SB5** stellt sich die Herstellung des Sulfobetainmonomers mit inverser Ladungsverteilung dar. So sind Styrolderivate mit einer Sulfonsäurefunktion in Benzylstellung sowie einem weiteren, reaktiven Rest käuflich nicht erhältlich. Auch Styrolderivate mit zwei unabhängig voneinander zur Reaktion fähigen Gruppen in den entsprechenden Abständen zum Benzolring sind nicht verfügbar. Das inverse Sulfobetainmonomer muss demnach von Grund auf synthetisiert werden, wobei nacheinander zwei funktionelle Gruppen – nämlich das Amin und die Sulfonsäure – an definierten Orten eingeführt werden müssen (siehe Abbildung 6.11).

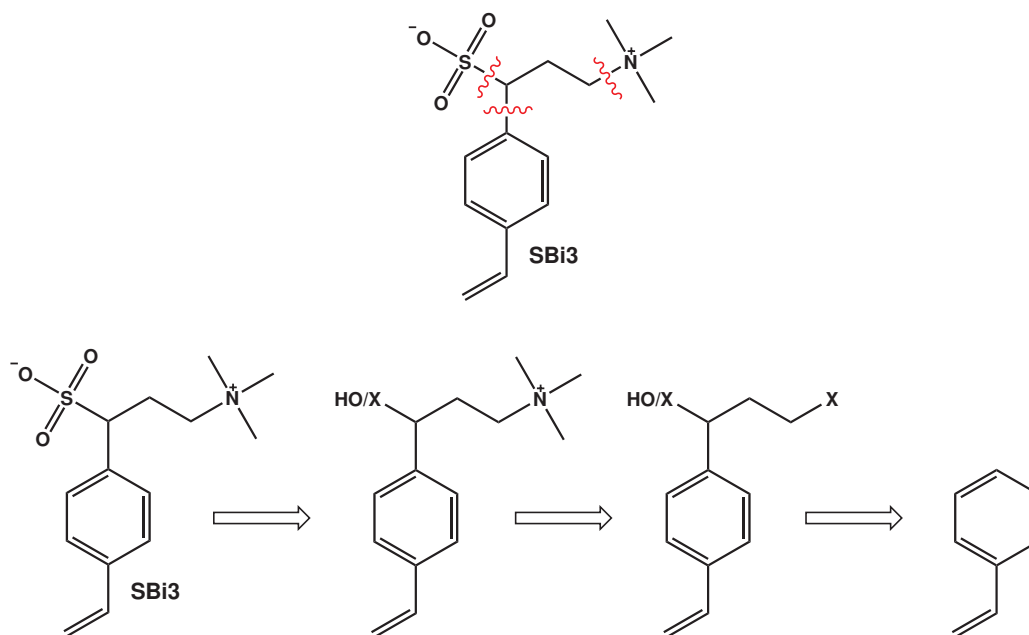


Abbildung 6.11: Herstellung des inversen Sulfobetainmonomers **SBi3** aus retrosynthetischer Sicht.

Aus retrosynthetischer Sicht kann somit z. B. zunächst die Sulfonäurefunktion entfernt und durch ein Halogenatom ersetzt werden. Die Einführung sollte, im Falle des Halogenatoms, über eine einfache nucleophile Substitution mit Natriumsulfit gelingen. Ein Halogenatom ist jedoch insofern problematisch, als dass auch das quartäre Amin über eine Substitution eines Halogenatoms eingeführt werden sollte. Liegen im Molekül bereits bei der Einführung des quartärenamins zwei Halogensubstituenten vor, werden beide in gleichem Maße vom tertiären Amin angegriffen. Einer der beiden Halogenreste muss somit durch einen anderen Substituenten ersetzt

werden, bzw. erst nach der Einführung des Amins erzeugt werden. Für die Sulfonsäure bietet sich z. B. eine Alkoholfunktion als Ersatz des Halogenatoms an. Diese kann entweder vor der Substitution mit Sulfit über Thionylchlorid durch ein Chloratom substituiert werden. Auch möglich sollte eine direkte Reaktion des Alkoholrestes mit Dimethylsulfit zur Erzeugung der Sulfonsäure sein. Als Vorläufer für das Amin müsste – wie bereits dargelegt – ein Halogenatom wie z. B. Cl vorhanden sein.

Der letzte Schritt wäre dann die Anbindung eines Moleküls mit endständigem Halogen, Alkohol an Stelle der Sulfonsäure und der Möglichkeit einer Anbindung an einen aromatischen Ring. Für die Substitution aromatischer Ringe stehen diverse Reaktionen zur Verfügung, darunter die *Friedel-Crafts*-Acylierung. Mithilfe dieser Reaktion können Halogencarbonsäuren an aromatische Systeme angebunden werden. In diesem Fall wäre es demnach sinnvoll eine  $\omega$ -Halogen-Chlorcarbonsäure an den aromatischen Ring anzubinden. Die Einführung von 3-Chlor-Propionsäurechlorid an PS/DVB konnte von *Klingenberg* erfolgreich gezeigt werden<sup>[128]</sup>.

Das dann vorliegende Molekül entspricht weitestgehend den bislang erarbeiteten Anforderungen. Einziger Unterschied ist das Vorhandensein einer Carbonylfunktion anstelle des zuvor genannten Alkohols. Dies sollte jedoch aus synthetischer Sicht kein größeres Problem darstellen.

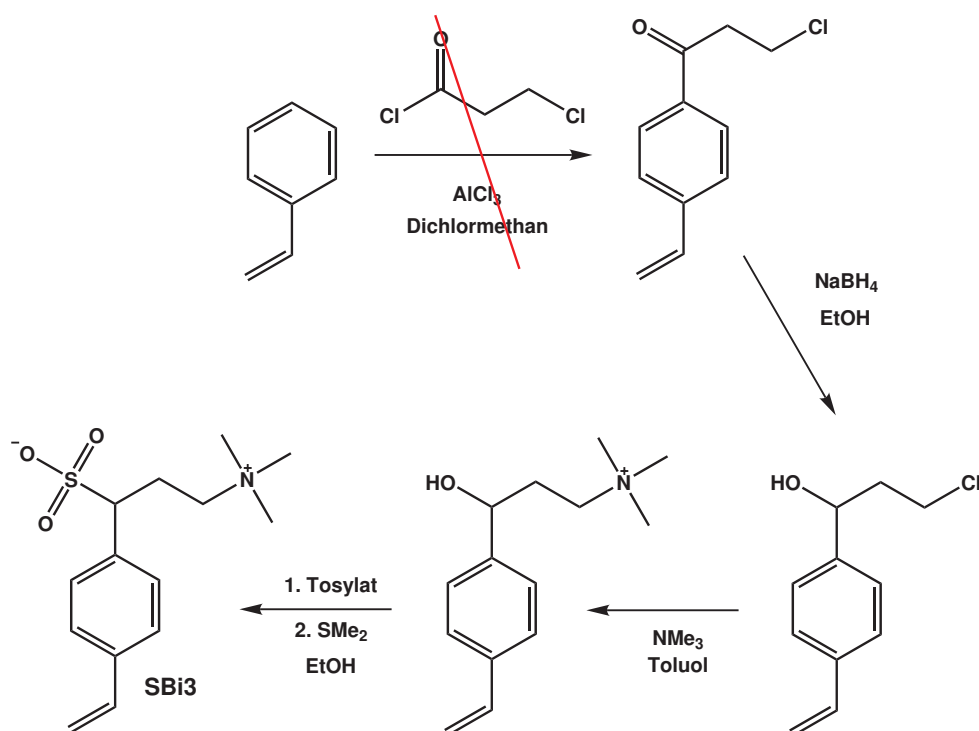


Abbildung 6.12: Erste Synthesestrategie für das inverse Sulfobetainmonomer **SBI3**.

Entsprechend des Schemas in Abbildung 6.12 liefert die *Friedel-Crafts*-Acylierung das oben rechts dargestellte Molekül. Die Carbonylfunktion kann in einem zweiten Schritt, der sowohl vor der Einführung des Amins als auch danach stattfinden kann, in einen Alkohol überführt

werden. Anschließend müssen nur noch das quartäre Amin sowie die Sulfonsäure eingeführt werden. Der größte Unsicherheitsfaktor bei dieser Syntheseroute ist jedoch in der Anwesenheit des polymerisierbaren Styrolrestes von Beginn der Synthese an zu sehen.

Dies ist auch der Grund für das Versagen dieses Ansatzes bei der ersten Reaktionsstufe. Bereits die *Friedel-Crafts*-Bedingungen (Aluminiumchlorid als Katalysator, 273 K) sind trotz der sehr tiefen Temperaturen zu aggressiv für den Styrolrest, so dass es während der Reaktion zur Polymerisation kommt. Eine radikalisch initiierte Polymerisation kann bei 273 K unter Ausschluss von Sauerstoff quasi ausgeschlossen werden. Erwartungsgemäß führt auch der Zusatz von 4-*tert*-Butylbrenzcatechin als Polymerisationsinhibitor nicht zu einer Verbesserung.

Um eine ungewollte Polymerisation zu verhindern muss der erste Reaktionsschritt somit abgewandelt werden. Die Möglichkeiten dafür sind vor allem im Schützen der Doppelbindung zu sehen. Verwendet man anstelle des Styrols ein Derivat, welches zwar keine Doppelbindung trägt, jedoch leicht in eine Doppelbindung überführt werden kann, entspricht dies quasi einer Polymerisationsschutzgruppe für die Doppelbindung. In Frage kommen hierfür in erster Linie Derivate, die anstelle der Doppelbindung eine halogenierte Einfachbindung tragen. So wird die Reaktion zunächst mit (1,2-Dibrommethyl)-benzol durchgeführt. Die dibromierte Doppelbindung kann bei Bedarf durch Einwirkung von Natriumsulfid in  $\text{H}_2\text{O}/\text{DMF}$  zur Doppelbindung umgesetzt werden<sup>[129]</sup>. Allerdings ist auch die Reaktivität des (1,2-Dibrommethyl)-benzols unter *Friedel-Crafts*-Bedingungen noch zu hoch und es kommt ebenfalls zur Polymerisation.

Anstelle des (1,2-Dibrommethyl)-benzols können jedoch auch andere Doppelbindungsvorläufer eingesetzt werden. So ist es möglich, einfach halogenierte Halogenethylbenzolderivate zu verwenden, welche unter Dehydrohalogenierung zur entsprechenden Doppelbindung umgesetzt werden können. Mit Chlor als Halogen sind solche Dehydrohalogenierungsreaktionen in  $\alpha$ -Position zu Benzolringen bereits literaturbekannt<sup>[130]</sup>. Das reaktivere Brom steht für analoge Reaktionen ebenfalls zur Verfügung. Die Dehydrobromierung sollte dann über die Einwirkung einer tertiären Aminbase (z. B. Triethanolamin) gelingen. Acylierungen derartiger einfach halogener Verbindungen konnten ebenfalls erfolgreich durchgeführt werden, ohne dass es zur ungewollten Polymerisation kam<sup>[130][131]</sup>. Die Syntheseroute muss demnach entsprechend Abbildung 6.13 abgeändert werden.

Nach der *Friedel-Crafts*-Acylierung des (2-Brommethyl)-benzols erfolgt die Reduktion der Carbonylfunktion zum Alkohol mittels Natriumborhydrid. Die Tatsache, dass bei dieser unspezifischen Reduktion ein racemisches Gemisch entsteht, soll an dieser Stelle keine weitere Beachtung finden. In einem dritten Reaktionsschritt sollte die Umsetzung mit Trimethylamin im Überschuss sowohl zur Substitution des Chloratoms als auch zur Dehydrobromierung der Doppelbindung führen<sup>[130]</sup>. Die Doppelbindung kann somit ohne einen zusätzlichen Reaktionsschritt

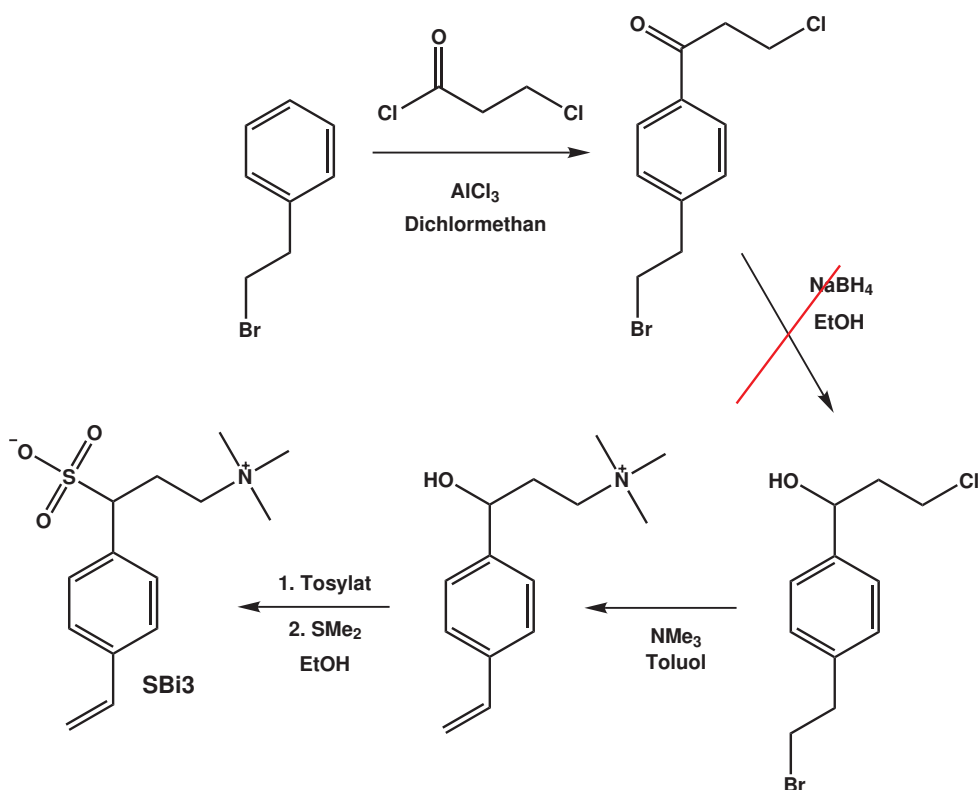


Abbildung 6.13: Geänderte Synthesestrategie für das inversen Sulfobetainmonomer **SBI3**.

entschützt werden. Zudem erfolgt die Einführung der Doppelbindung erst sehr kurz vor dem Ende der Syntheseroute, was eine ungewollte Polymerisation bis dahin ausschließt und die einzelnen Reaktionschritte somit vereinfacht. In einem letzten Schritt muss nur noch die Sulfonsäure anstelle des Alkohols in das Molekül eingeführt werden.

Wie in der Abbildung jedoch zu erkennen ist, endet die geplante Syntheseroute bereits auf der zweiten Reaktionsstufe. Die Acylierung des (2-Bromomethyl)-benzols ist zwar problemlos möglich und führt – nach saurer Hydrolyse – auch mit guten Ausbeuten zum gewünschten Produkt. Die Reduktion der Carbonylgruppe hingegen schlägt fehl. Die Reaktion wird entsprechend literaturbekannter Synthesen<sup>[132][133]</sup> unter Verwendung von Natriumborhydrid in Ethanol bei Raumtemperatur sowie unter Eiskühlung durchgeführt. Auf diese Weise konnte z. B. 3-Chloro-1-phenylpropan-1-on – also ein Analogon zum hier eingesetzten Molekül, lediglich ohne den Bromalkan-Rest – erfolgreich zum entsprechenden Alkohol reduziert werden<sup>[133]</sup>. Die Umsetzung des hier vorliegenden acylierten Zwischenproduktes mit Natriumborhydrid liefert jedoch ein sehr unklares NMR-Spektrum. Als noch problematischer ist die Tatsache zu sehen, dass das GC-Massenspektrum des aufgereinigten Produktgemisches vier ähnlich große Signale mit z. T. unterschiedlichen Massenfragmenten zeigt.

Der Grund für das Fehlschlagen der Reduktion der Carbonylgruppe kann an dieser Stelle festgestellt, jedoch nicht zufriedenstellend erklärt werden. Unabhängig von den Problemen dieser Re-

duktion ist die Syntheseführung bislang sehr kompliziert und langwierig. So muss zunächst unter Ausschluss von Wasser eine *Friedel-Crafts*-Acylierung durchgeführt werden, im Anschluss – ebenfalls unter Ausschluss von Wasser – eine Reduktion und darauf folgend noch mindestens zwei weitere Reaktionsschritte. Es wird daher zunächst nach einer einfacheren Möglichkeit gesucht, das gewünschte – oder zumindest ein sehr ähnliches – Molekül herzustellen. Eine recht komfortable Reaktionsführung ist möglich, indem das Zielmolekül um eine Methylengruppe erweitert wird (siehe Abbildung 6.14).

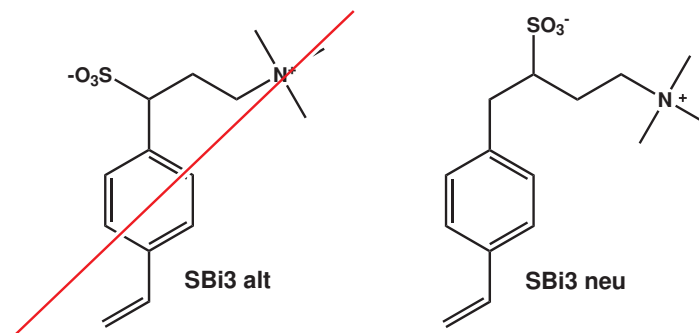


Abbildung 6.14: Abgewandelte Struktur des Zielmoleküls **SBI3**.

Das neue Zielmolekül (**SBI3 neu**) entspricht bezüglich des Abstands zwischen Amin und Sulfonsäure exakt dem ursprünglichen Molekül. Der Unterschied liegt lediglich im Abstand beider geladener Gruppen vom Vinylbenzyl-Spacer. Diese minimale Variation sollte das Verhalten des Ionomers in späteren stationären Phasen jedoch nur marginal verändern. Die zu diesem inversen Sulfobetain gehörige Syntheseroute ist in Abbildung 6.15 dargestellt.

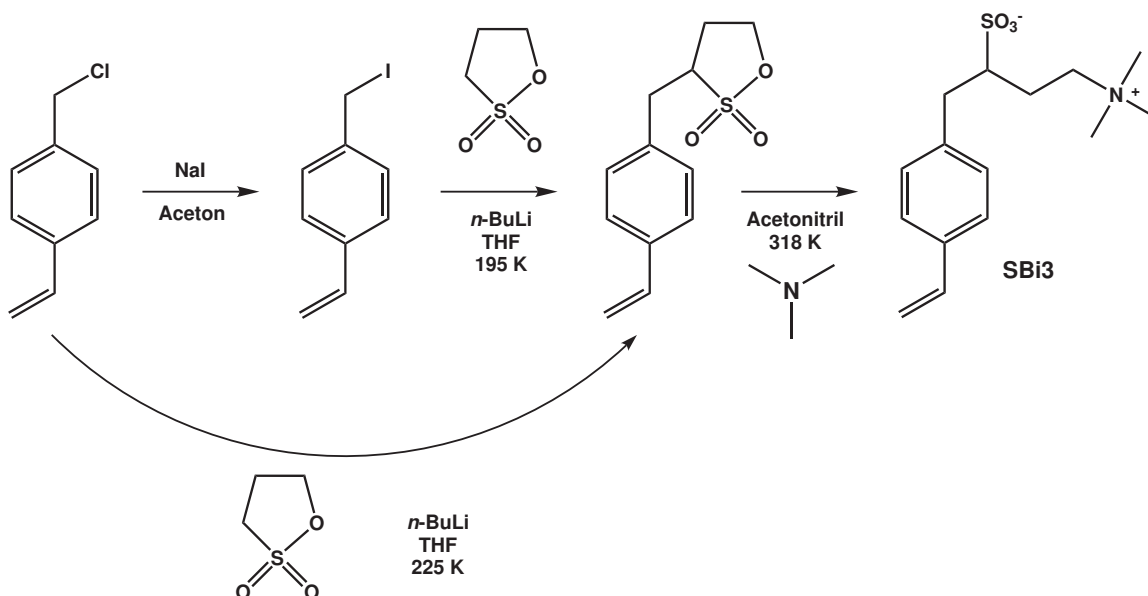


Abbildung 6.15: Endgültige Synthesestrategie für das inverse Sulfobetainmonomer **SBI3**.

Die Herstellung gelingt in diesem Fall in zwei bis drei Reaktionsstufen, wobei nur ein Teilschritt

unter Ausschluss von Wasser, d. h. mit wasserfreien Lösungsmitteln, durchgeführt werden muss. Im ersten – respektive zweiten – Reaktionsschritt wird zunächst ein 4-Vinylbenzylhalogenid mit *n*-Butyllithium unter Kühlung mit einer Kältemischung mit 1,3-Propansulton umgesetzt. Hierdurch wird eine C-C-Bindungsknüpfung zwischen Sulton und Styrolrest realisiert, wobei das Sulton weiterhin als Heterocyclus vorliegt. Diese Reaktion kann sowohl mit 4-Vinylbenzylchlorid direkt, als auch mit 4-Vinylbenzyljodid (VBI) durchgeführt werden, führt jedoch im Falle des 4-Vinylbenzyljodids in höheren Ausbeuten zum gewünschten Zwischenprodukt (65% gegenüber 43%). Die Umsetzung des VBC zu VBI über eine *Finkelstein*-Reaktion mit Natriumiodid in Aceton ist eine unkomplizierte Reaktion, die mit einer Ausbeute von 95% gelingt.

Ausgehend vom Zwischenprodukt wird das Zielmolekül **SBi3** durch einfache Umsetzung mit Trimethylamin in Acetonitril erhalten. Bei dieser Reaktion kommt es zur Ringöffnung und gleichzeitig zur Ausbildung beider geladener Gruppen. Das Produkt fällt somit – analog den Sulfobetainmonomeren **SB3** und **SB4** – aus der Reaktionslösung aus. Auch hier kann eine Aufreinigung durch Waschen des Produkts mit Acetonitril erfolgen, das Ionomer sollte unter Inertgasatmosphäre bei maximal 248 K gelagert werden. Problematisch sind bei den gezeigten Reaktionsschritten jedoch bislang noch die Ausbeuten, die mit 36% über den gesamten Herstellungsprozess mäßig ausfallen. Eine weitere Optimierung der Reaktionsparameter ist bislang nicht erfolgt. Es kann jedoch erfolgreich gezeigt werden, dass die Herstellung eines Sulfobetainmonomers mit inverser Ladungsverteilung grundsätzlich möglich ist. Aufgrund der geringen erhaltenen Substanzmengen wird das inverse Sulfobetainmonomer **SBi3** auch nicht für weitere Charakterisierungen oder Pfropfreaktionen herangezogen.

## 6.2 Untersuchungen an den zwitterionischen Monomeren

Für die weitere Charakterisierung der Sulfobetainmonomere **SB1** bis **SB5** stehen diverse analytische Methoden zur Auswahl. NMR-spektroskopische Untersuchungen wurden grundsätzlich bereits im Rahmen der Synthesen eingesetzt, um die Struktur sowie die Reinheit der hergestellten Moleküle sicherstellen zu können. Die mittels  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie festgestellte Reinheit kann sich aber prinzipbedingt nur auf NMR-aktive Substanzen, also auf Moleküle, die H-Atome tragen, beziehen. Da während der Syntheseprozesse jedoch dauerhaft geladene Gruppen in die Moleküle eingebracht werden, stellt sich die Frage nach den jeweiligen Gegenionen sowie nach möglicherweise vorhandenen, anorganischen Verunreinigungen.

### 6.2.1 Bestimmung der Gegenionen sowie anorganischer Verunreinigungen

Alle hergestellten Sulfobetain austauscher besitzen ein quartäres Amin und eine Sulfonsäure. Aus Gründen der Elektroneutralität wird für jede dieser geladenen Gruppen ein Gegenion benötigt. Als Gegenionen können anorganische Salze, wie z. B. Natriumchlorid, fungieren.  $\text{Na}^+$  würde dabei als Gegenion für die Sulfonsäure dienen,  $\text{Cl}^-$  als Gegenion für das Amin. Da die Sulfobetainmonomere innerhalb eines Moleküls jedoch beide, gegenseitig geladenen, funktionellen Gruppen tragen, ist grundsätzlich auch eine intramolekulare Absättigung der Ladungen durch die jeweils anders geladenen Gruppen denkbar. Es könnte also zur Ausbildung sogenannter innerer Ionenpaare kommen. Ein solches inneres Ionenpaar ist beispielhaft am Sulfobetain **SB3** in Abbildung 6.16 gezeigt.

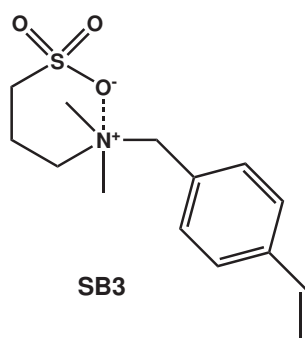


Abbildung 6.16: Schematische Darstellung eines denkbaren inneren Ionenpaars des Sulfobetainmonomers **SB3**.

In diesem Fall würde die intramolekulare Absättigung zu einem Ionenpaar in Form eines Sechsrings führen. Bei einem solchen Molekül ist die Anwesenheit anorganischer Ionen als Gegenionen für die geladenen, funktionellen Gruppen somit nicht notwendig. Die erforderliche Elektroneutralität kann durch die funktionellen Gruppen selbst gewährleistet werden. Fraglich ist demnach, ob die hergestellten Sulfobetainmonomere überhaupt Gegenionen tragen oder aber als reine Ionomermoleküle vorliegen. Die Beantwortung dieser Frage ist besonders im Hinblick auf die spätere Umsetzung der Monomere im Rahmen von Pfropfpolymerisationen entscheidend. Bei diesen Polymerisationen ist es notwendig, die Molekülmasse der Monomere zu kennen, um z. B. den Radikalstarter in der korrekten stöchiometrischen Konzentration einzusetzen.

An dieser Stelle ist es jedoch zunächst noch nicht entscheidend zu klären, ob innere Ionenpaare vorliegen oder nicht. Dies geschieht nachfolgend ausführlich unter Punkt 6.2.2. Viel entscheidender ist es, die genaue Zusammensetzung der einzelnen Produkte zu bestimmen. Die Anwesenheit anorganischer Salze als Gegenionen oder aber als ionische Verunreinigungen wird nämlich in erster Linie vom Herstellungsprozess bzw. der Syntheseroute und nicht von der Aus-

bildung innerer Ionenpaare abhängen. So wird in vielen Synthesen das Natriumsalz der entsprechenden Sulfonsäure eingesetzt, zudem liefern nucleophile Substitutionen von Halogenalkanen grundsätzlich freie Halogenide. Einmal im Reaktionsgemisch vorliegende anorganische Salze lassen sich aufgrund der ebenfalls ionischen Natur der Sulfobetainmonomere nicht mehr vom gewünschten Produkt abtrennen. Unabhängig von der Frage nach der Ausbildung innerer Ionenpaare könnten somit bei allen Monomeren anorganische Salze in stöchiometrischen Mengen – als Gegenionen oder auch nur als nicht entfernbare Verunreinigungen – in den hergestellten Feststoffen enthalten sein.

Um die Zusammensetzung der Sulfobetainmonomere feststellen zu können, bieten sich verschiedene Methoden zur Bestimmung ionischer, anorganischer Bestandteile an. Dass keine weiteren organischen Verunreinigungen vorliegen, konnte bereits mittels der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektroskopie sichergestellt werden. Der Nachweis anorganischer Salze kann entweder über die entsprechenden Anionen, oder aber über die Kationen erfolgen. Neben klassischen nasschemischen Methoden, wie der titrimetrischen Bestimmung von Halogeniden durch Silbernitratfällung, werden für die Bestimmung von Ionen inzwischen hauptsächlich ionenaustauschchromatographische oder massenspektrometrische Untersuchungen eingesetzt.

Für den Nachweis ionischer Bestandteile wird zunächst die Anionenaustauschchromatographie zur Bestimmung von Chlorid und Bromid herangezogen. Als Trennsäule wird eine kommerzielle Anionenaustauschersäule (Metrosep A Supp 5,  $4 \times 100$  mm, Metrohm AG, Herisau, Schweiz) verwendet, als Eluent kommt Natriumcarbonat der Konzentration 3,5 mmol/l zum Einsatz. Bei einer Flussrate von 0,8 ml/min und einer Trennsäulentemperatur von 318 K liefert die Injektion eines Mischstandards das in Abbildung 6.17 gezeigte Chromatogramm.

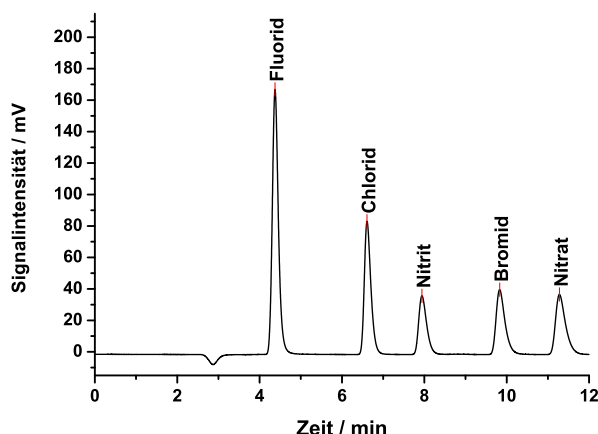


Abbildung 6.17: Trennung eines Gemisches aus NaF, NaCl,  $\text{NaNO}_2$ , NaBr und  $\text{NaNO}_3$ . Trennsäule: Metrosep A Supp 5,  $4 \times 100$  mm, Eluent: 3,5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,8 ml/min, Säulentemperatur: 318 K, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Analytkonzentration: je 10 mg/kg.



Die anionischen Bestandteile ionischer Verunreinigungen können mithilfe dieser Methode sehr gut getrennt und detektiert werden. Eine Kalibration erfolgt im Bereich von 0,5 bis 10 mg/kg bezogen auf die reinen Anionen. Die Messungen der Ionomere **SB1** und **SB5** als wässrige Lösungen (je 10 mg/kg an Ionomer) führen zu den in Abbildung 6.18 gezeigten Chromatogrammen.

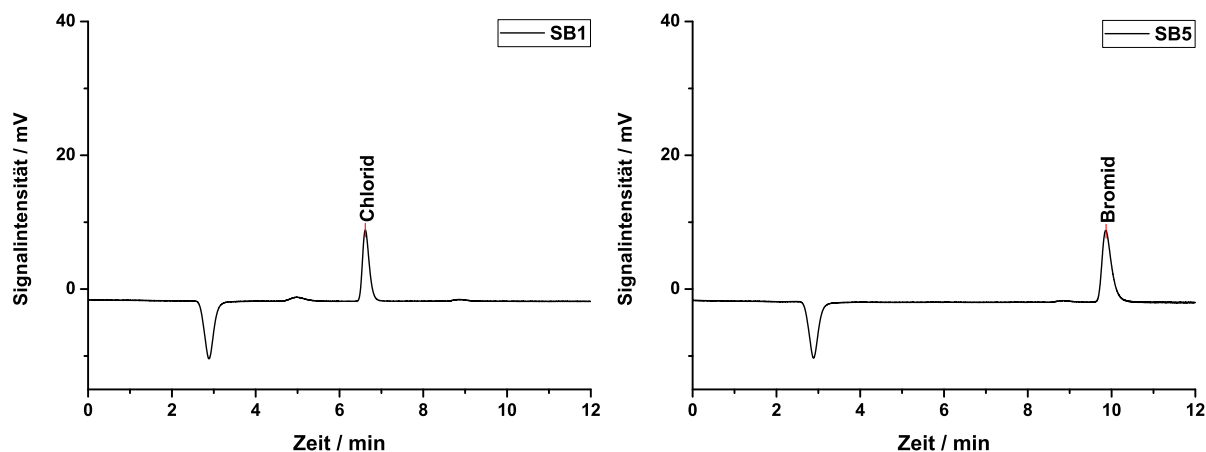


Abbildung 6.18: Anionentrennung bei Injektion der Ionomere **SB1** und **SB5**. Trennsäule: Metrosep A Supp 5,  $4 \times 100$  mm, Eluent: 3,5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,8 ml/min, Säulentemperatur: 318 K, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Analytkonzentration: je 10 mg/kg Ionomer.

Anhand der beispielhaft ausgewählten Chromatogramme für die zwitterionischen Monomere **SB1** und **SB5** kann deutlich gezeigt werden, dass die einzelnen Ionomere – abhängig vom Herstellungsprozess – nur bestimmte Anionen in definierten Konzentrationen enthalten. Das Monomer **SB1**, dessen Chromatogramm auf der linken Seite der Abbildung dargestellt ist, zeigt z. B. lediglich eine Verunreinigung mit Chlorid. Im Rahmen der Synthese wurde bei diesem Molekül das tertiäre Amin *N,N*-Dimethylaminomethansulfonat (**SB1\_1**) als Natriumsalz mit VBC umgesetzt. Bei der nucleophilen Substitution wird das Chloratom durch das tertiäre Amin unter Bildung des quartären Amins ersetzt. Das Chloratom wird dabei als Chloridion abgespalten und kann somit als Gegenion für das quartäre Amin dienen, oder aber mit dem  $\text{Na}^+$  der Sulfonsäure als anorganische Verunreinigung vorliegen.

Es ist in jedem Fall sehr wahrscheinlich, dass pro Molekül des gebildeten zwitterionischen Monomers ein Chloridion im Endprodukt vorliegt. Diese Vermutung wird insbesondere von der Tatsache bestätigt, dass bei einer Einwaage von 10 mg Ionomer pro Kilogramm Lösung, ein Chloridgehalt von etwa 1,1 mg/kg bestimmt werden kann. Mithilfe der anionenaustauschchromatographischen Trennung mit Kalibration auf Chlorid kann somit ein Massenanteil von 11% Chlorid im zwitterionischen Monomer **SB1** festgestellt werden. Ein Molekül mit der Summenformel  $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{ClNNaO}_3\text{S}$  – was genau dem zwitterionischen Monomer **SB1** mit Natrium und Chlorid als Gegenionen oder mit einem Äquivalent  $\text{NaCl}$  als Verunreinigung entspricht – ent-

hält rechnerisch einen Chloridanteil von 11,3% (M/M). Der gefundene Massenanteil von 11% entspricht demnach gerade einem Chloridion pro zwitterionischem Molekül.

Ähnlich verhält es sich bei dem in Abbildung 6.18 rechts abgebildeten Chromatogramm des Ionomers **SB5**. Dieses zwitterionische Molekül wird aus einem tertiären Amin und 5-Brompentan-1-sulfonat (**SB5\_1**, als Natriumsalz) hergestellt. Bei der nucleophilen Substitution wird somit ein Bromidion pro Ionomermolekül freigesetzt. Der mittels Anionenaustauschchromatographie bestimmte Bromidgehalt liegt bei etwa 2,0 mg/kg, also bei 20% (M/M). Der rechnerische Massenanteil des Bromids an der Molekülmasse des Ionomers **SB5** mit einem Äquivalent NaBr beträgt 19,3%. Auch für dieses Molekül ist somit die Übereinstimmung des gefundenen mit dem theoretisch zu erwartenden Bromidgehalt, bei Vorliegen eines Äquivalents Natriumbromid, evident.

Die gleiche Feststellung kann für das nicht dargestellte Chromatogramm des Sulfobetains **SB2** getroffen werden. Auch dieses zwitterionische Molekül liegt den Erwartungen entsprechend zusammen mit einem Äquivalent Natriumchlorid vor.

Abweichende Beobachtungen werden jedoch für die Moleküle **SB3** und **SB4** gemacht. Bei den ionenaustauschchromatographischen Messungen dieser beiden Sulfobetaine können keinerlei anionischen Verunreinigungen festgestellt werden. Aber auch dieser Befund entspricht durchaus den Erwartungen. So werden die Iomere **SB3** und **SB4** erzeugt, indem 1,3-Propansulton bzw. 1,4-Butansulton mit dem tertiären Amin 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (**SB3\_1**) umgesetzt werden. Das tertiäre Amin liegt dabei nicht als Hydrochlorid vor. Die Sultone tragen die Sulfonsäuren als ungeladene Heterocyclen und liegen somit ebenfalls ohne Gegenionen vor. Bei der nucleophilen Substitution mit gleichzeitiger Ringöffnung entstehen demnach zwar die geladenen Gruppen, es werden jedoch keine anorganischen Ionen frei. In der logischen Folge können im Rahmen anionenaustauschchromatographischer Trennungen auch keine anorganischen Anionen gefunden werden. Die Absättigung der Ladungen, d. h. die Elektroneutralität, kann bei diesen beiden Iomeren also nur durch intra- oder intermolekulare Wechselwirkungen zwischen den quartären Aminen und den Sulfonsäuren erreicht werden. Die Frage, welcher der beiden Effekte vorliegt, wird ebenfalls im nachfolgenden Unterpunkt 6.2.2 geklärt.

Zunächst sollen jedoch die bislang erhaltenen Ergebnisse, welche auf die Anwesenheit anorganischer Salze in den Sulfobetainmonomeren **SB1**, **SB2** und **SB5** hindeuten, über Alternativverfahren bestätigt werden. Neben der Anionenaustauschchromatographie stellt die Elementaranalyse eine einfache Methode zur Bestimmung der Zusammensetzung organischer Feststoffe mit anorganischen Beimischungen dar. Im Gegensatz zur Anionenaustauschchromatographie – bei der zumindest die anionische Spezies über die Retentionszeit eindeutig identifiziert werden kann – liefert die Elementaranalytik jedoch nur Ergebnisse für den Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehalt der Gesamtprobe. Die übrigen Bestandteile einer nicht rein organischen Probe

müssen bereits relativ genau bekannt sein, um sich über die theoretische Berechnung der Massenanteile einer erwarteten Summenformel, an die real ermittelten Kohlenstoff-, Wasserstoff- und Stickstoffgehalte anzunähern.

Die Elementaranalyse ist daher, gerade im Anschluss an die anionenaustauschchromatographische Trennung, ausgezeichnet zur Bestätigung der bereits erhaltenen Ergebnisse geeignet, da für die einzelnen zwitterionischen Monomere bereits weitreichende Informationen über deren Zusammensetzung ermittelt wurden. Für den Fall, dass die angenommenen Zusammensetzungen – mit je einem Äquivalent NaCl bzw. NaBr – zutreffen, müsste die Elementaranalytik Ergebnisse liefern, die den rechnerisch ermittelten Massengehalten recht nahe kommen. Die theoretischen Gehalte für die Sulfobetaine mit und ohne anorganische Salze, sowie die elementaranalytisch erhaltenen Ergebnisse, sind in Tabelle 6.1 zusammengefasst.

Tabelle 6.1: Ergebnisse der elementaranalytischen Untersuchungen.

Sulfobetainmonomer	C-gehalt / % (M/M)	H-gehalt / % (M/M)	N-gehalt / % (M/M)
<b>SB1</b> Theorie, kein NaCl	56,5	6,7	5,5
<b>SB1</b> Theorie, 1 eq NaCl	45,9	5,5	4,5
<b>SB1</b> gefunden	44,8	5,7	4,0
<b>SB2</b> Theorie, kein NaCl	58,0	7,1	5,2
<b>SB2</b> Theorie, 1 eq NaCl	47,6	5,8	4,3
<b>SB2</b> gefunden	45,9	6,3	4,4
<b>SB3</b> Theorie, kein NaCl	59,3	7,5	4,9
<b>SB3</b> Theorie, 1 eq NaCl	49,2	6,2	4,1
<b>SB3</b> gefunden	58,5	7,4	4,8
<b>SB4</b> Theorie, kein NaCl	60,6	7,8	4,7
<b>SB4</b> Theorie, 1 eq NaCl	50,6	6,5	3,9
<b>SB4</b> gefunden	58,5	7,9	4,3
<b>SB5</b> Theorie, kein NaBr	61,7	8,1	4,5
<b>SB5</b> Theorie, 1 eq NaBr	46,4	6,1	3,4
<b>SB5</b> gefunden	47,6	5,8	3,1

Betrachtet man allein die beiden rechnerischen Kohlenstoffgehalte für das Sulfobetain **SB1**, also den C-Gehalt des reinen organischen Ionomers und den C-Gehalt des Ionomers mit einem Äquivalent Natriumchlorid, sticht die Anwendbarkeit der Elementaranalyse zur Bestimmung der Ionomerzusammensetzung ins Auge. Der Kohlenstoffgehalt des reinen zwitterionischen Monomers – ohne Gegenionen bzw. anorganische Verunreinigungen – liegt mit 56,5% um beinahe zehn Prozent höher, als er es unter Anwesenheit eines Äquivalents NaCl täte. Selbst bei der, für

die Elementaranalyse zu erwartenden, verhältnismäßig hohen Streuung der Messwerte ist somit eine eindeutige Aussage über das Vorhandensein anorganischer Bestandteile möglich.

Die in der Praxis gefundenen Elementgehalte stimmen für alle hergestellten Ionomere sehr gut mit den theoretischen Werten überein. Die Ionomere **SB1**, **SB2** und **SB5** zeigen Elementgehalte, die gerade denen der Moleküle mit je einem Äquivalent NaCl bzw. NaBr entsprechen. Die ermittelten Gehalte für die Sulfobetainmonomere **SB3** und **SB4** liegen sehr dicht an den berechneten Werten für die reinen Monomermoleküle, ohne anorganische Verunreinigungen.

Es kann somit abschließend festgestellt werden, dass die einzelnen zwitterionischen Monomere – bedingt durch unterschiedliche Herstellungsprozesse – entweder keine, oder aber stöchiometrische Mengen an anorganischen Salzen enthalten. Für die Berechnung späterer Reaktionsansätze können daher die in Tabelle 6.2 zusammengefassten Molekülmassen der Sulfobetainmonomere herangezogen werden.

Tabelle 6.2: Molekülmassen und Summenformeln der hergestellten Sulfobetainmonomere.

Sulfobetainmonomer	Molekülmasse / g/mol	Summenformel
<b>SB1</b>	313,78	$C_{12}H_{17}ClNNaO_3S$
<b>SB2</b>	327,80	$C_{13}H_{19}ClNNaO_3S$
<b>SB3</b>	283,39	$C_{14}H_{21}NO_3S$
<b>SB4</b>	297,41	$C_{15}H_{23}NO_3S$
<b>SB5</b>	414,33	$C_{16}H_{25}BrNNaO_3S$

### 6.2.2 Versuch des Nachweises innerer Ionenpaare mittels NMR-Titration

Nachdem nun sichergestellt wurde, welche Monomere in welchem Umfang anorganische Ionen enthalten, kann im weiteren Verlauf der Arbeit die Frage nach der Ausbildung innerer Ionenpaare näher betrachtet werden. Der Nachweis der Ausbildung oder auch Nichtausbildung stabiler, innerer Ionenpaare liefert bereits erste Informationen für die folgenden Pfropfpolymerisationen und den späteren chromatographischen Einsatz zwitterionischer stationärer Phasen.

So kann z. B. die nach außen wirkende Ladung der Moleküle einen Einfluss auf das Polymerisationsverhalten haben. *Raskop* hatte postuliert, dass besonders tensidartige Moleküle gute Belegungseigenschaften in der EVO-Synthese aufweisen<sup>[37]</sup>. *Rieß* und *Theis* haben gezeigt, dass

auch ungeladene Moleküle in der Pffropfpolymerisation eingesetzt werden können<sup>[39][118]</sup>. Vergleichende Untersuchungen zum Verhalten geladener und ungeladener Monomere für den Einsatz in der EVO-Synthese sind hingegen bislang nicht durchgeführt worden.

Neben dem Einfluss auf die Pffropfpolymerisation kann damit gerechnet werden, dass Sulfobetainmonomere, die stabile innere Ionenpaare bilden, in der ZIC erst bei höheren Elutionen-konzentrationen zur Ausbildung der hantelförmigen Ladungswolken tendieren. Somit kann das Wissen über innere Ionenpaare im weiteren Verlauf der Arbeit die Erklärung evtl. beobachtbarer Phänomene vereinfachen.

Es wird erwartet, dass besonders die Moleküle, die Fünf- und Sechsringionenpaare bilden, stabile innere Ionenpaare liefern. Aus vielen Bereichen der Chemie ist bekannt, dass die Ausbildung von Fünf- und Sechsringsystemen begünstigt ist. Bei den Sulfobetainmonomeren führen die Moleküle mit zwei bzw. drei Methylengruppen zwischen den Ladungen, also **SB2** und **SB3**, zu solchen Ringen. Die Strukturen der denkbaren ringförmigen Ionenpaare dieser Monomere sind in Abbildung 6.19 dargestellt.

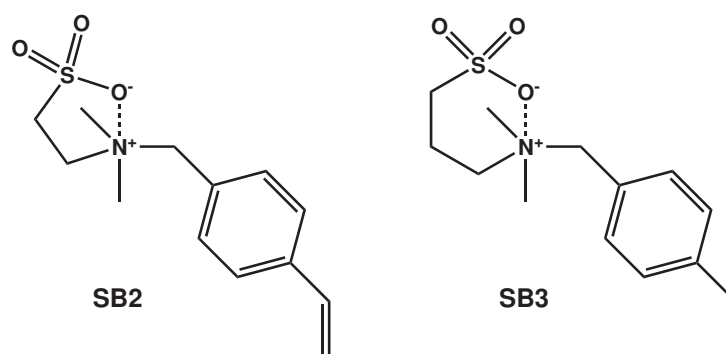


Abbildung 6.19: Schematische Darstellung der denkbaren, stabilen inneren Ionenpaare der Sulfobetainmonomere **SB2** und **SB3**.

Der Nachweis der Bildung solcher inneren Ionenpaare ist jedoch nicht trivial. In erster Linie bieten sich für derartige Fragen der Strukturaufklärung NMR-Experimente an. *Weers et al.* haben in der Vergangenheit bereits ausführliche Untersuchungen an zwitterionischen Sulfobetain-Tensiden durchgeführt und dabei festgestellt, dass in Lösung wohl keine inneren Ionenpaare gebildet werden<sup>[134]</sup>. Die Untersuchungen wurden an Tensiden mit C16-Alkylrest und drei, vier bzw. sechs Methylengruppen zwischen Amin und Sulfonsäure durchgeführt. Diese Moleküle entsprechen – mit Ausnahme der Alkylreste – den Sulfobetainmonomeren **SB3**, **SB4** und dem nicht hergestellten **SB6**. Neben der NMR-Spektroskopie (400 MHz, <sup>1</sup>H-NMR-Spektrometer) hat die Forschergruppe die Infrarotspektroskopie, Untersuchungen bezüglich der kritischen Mizellbildungskonzentration sowie pK<sub>S</sub>-Wert-Bestimmungen herangezogen.

Die NMR-spektroskopischen Untersuchungen an Molekülen mit 17 bis 21 Methylene- sowie

drei Methylgruppen gestaltet sich jedoch grundsätzlich schwierig. So zeigen zumindest elf der 17 Methylengruppen im Tensid mit drei  $\text{CH}_2$ -Gruppen zwischen den Ladungen überlappende Signale im  $^1\text{H}$ -NMR-Spektrum. *Weers et al.*<sup>[134]</sup> haben trotz dieser Überlappungen, unter Zuhilfenahme von Computersimulationen, über die Kopplungskonstanten der Protonen der Methylengruppen zwischen den Ladungen argumentiert. Die Auswertung dieser Kopplungskonstanten ließ die Gruppe auf eine zum Teil freie Drehbarkeit der Methylengruppen zwischen den Ladungen schließen. Zwar zeigten die C-C-Bindungen in direkter Nähe des quartären Amins eine gehinderte Rotation, die weiter entfernten Bindungen zwischen den Ladungen waren jedoch frei drehbar. Würden innere Ionenpaare vorliegen, dürfte diese freie Drehbarkeit nicht gegeben sein.

Obwohl auch die weiteren, von der Forschergruppe durchgeführten Experimente eher auf das Nichtvorhandensein innerer Ionenpaare schließen ließen, sollen dennoch Untersuchungen an den neu hergestellten zwitterionischen Monomeren angestellt werden. Besonders interessant ist dabei, dass das Ionomer **SB3** vollkommen frei von anorganischen Verunreinigungen bzw. Gegenionen hergestellt werden konnte. Aufgrund dieser Tatsache kann das Molekül das Elektroneutralitätsprinzip grundsätzlich nur über eine inter- oder intramolekulare Absättigung der Ladungen erreichen. Es bestehen für das Sulfobetainmonomer **SB3** also nur die in Abbildung 6.20 dargestellten Anordnungen.

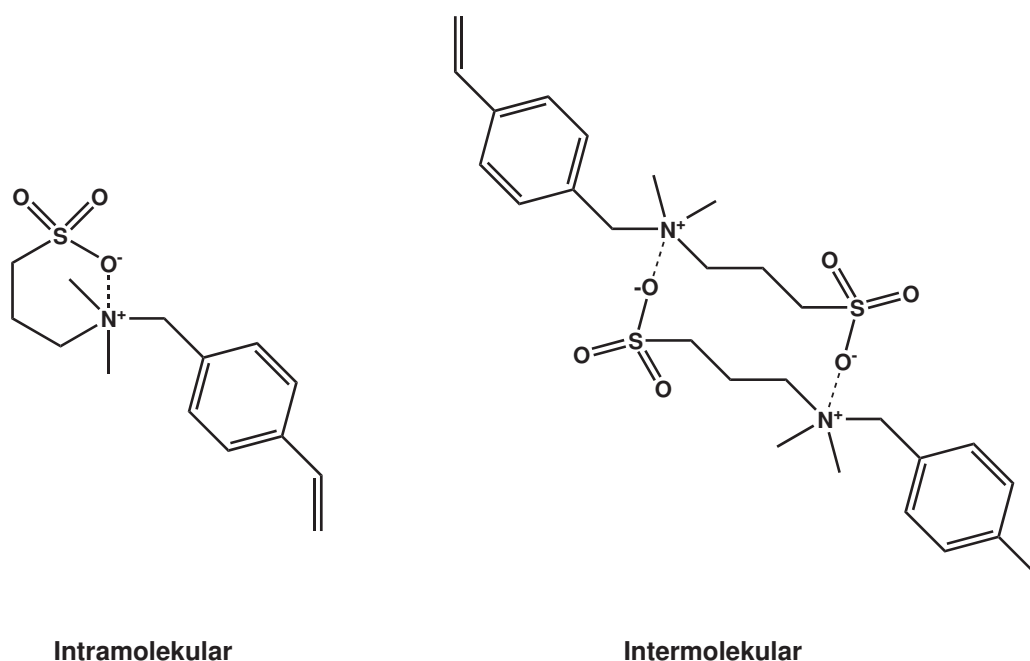


Abbildung 6.20: Schematische Darstellung der Möglichkeiten, in einer Lösung des Ionomers **SB3** Elektroneutralität zu erreichen.

Welche dieser Anordnungen jedoch tatsächlich vorliegt, soll anhand von NMR-Titrationsen ermittelt werden. In jedem der beiden Fälle wird nämlich der Zusatz ausreichend großer Mengen

an Fremdionen (anorganische Salze) zur Auflösung der Anordnung führen. Liegen in der Lösung sehr viele Ionen vor, die mit den funktionellen Gruppen des Sulfobetainmonomers wechselwirken können, wird auch die Konkurrenzsituation für ein stabiles inneres Ionenpaar so stark, dass die elektrostatische „Bindung“ gebrochen wird. Wird also die Ionenstärke der NMR-Lösung schrittweise durch Zugabe anorganischer Salze gesteigert, sollte irgendwann die Anordnung von inter- oder intramolekularen Ionenpaaren aufgebrochen werden. Sofern es sich um eine intermolekulare Absättigung der Ladungen handelt, ändert sich bei Auflösung der Anordnung allerdings die räumliche Anordnung der beiden Moleküle nicht, d. h. die NMR-Spektren von Ionenpaar und freiem Sulfobetainmolekül müssten nahezu identisch sein. Dennoch könnten leichte Verschiebungsänderungen aufgrund der Veränderung der Gegenionen auftreten.

Verläuft die Absättigung jedoch über ein intramolekulares Ionenpaar, ändert sich die räumliche Anordnung des Moleküls drastisch von einem rigiden, in sich nicht drehbaren Ringsystem hin zu einem linearen, frei rotierenden System. Diese Änderung der räumlichen Anordnung müsste – speziell für die Methylengruppen zwischen den Ladungen – zu einer deutlichen Änderung der Kopplungsmuster führen. Während die einzelnen Protonen einer Methylengruppe im linearen Zustand chemisch identisch sind, müsste die ringförmige Anordnung zu einer Aufspaltung der beiden Signale führen.

Weers *et al.*<sup>[134]</sup> hatten für die Protonen der C-C-Bindungen in direkter Nähe zum quartären Amin stark koppelnde Spinsysteme gefunden, was auf eine gehinderte Rotation um diese C-C-Bindungen hindeutet. Für den Fall einer stabilen Ringbildung müssten komplexe Kopplungsmuster auch für die übrigen Protonen der Methylengruppen zwischen den Ladungen gefunden werden, die sich mit steigender Ionenstärke der NMR-Lösung jedoch auflösen sollten. Um dies zu untersuchen, wird zunächst ein NMR-Spektrum des Sulfobetainmonomers **SB3** ohne Zusatz von Fremdionen durchgeführt. Die Konzentration des Monomers in D<sub>2</sub>O liegt bei 17,5 mmol/l. Im Anschluss werden im Rahmen zweier Messreihen jeweils schrittweise NaCl bzw. NaClO<sub>4</sub> als Fremdionen zugegeben. Die Zugabe erfolgt bis zu einer maximalen Fremdionenkonzentration von 150 mmol/l, also einem achtfachen Überschuss. In Abbildung 6.21 sind die NMR-Spektren des Sulfobetains **SB3** ohne Fremdionen sowie mit acht Äquivalenten Fremdionen übereinandergelegt.

Gezeigt ist dabei lediglich der Bereich der chemischen Verschiebung, der für die Methylenprotonen zwischen den Ladungen interessant ist. Aufgrund der Tatsache, dass der organische Rest der hergestellten Sulfobetainmonomere aus ungesättigten C-C-Bindungen besteht, kommt es – anders als bei langen Alkylresten – nicht zu Überlappungen der Signale.

Unabhängig von den Kopplungsmustern der einzelnen Signale fällt zunächst auf, dass auch die Zugabe eines achtfachen Überschusses an Fremdsalz keine signifikante Veränderung des <sup>1</sup>H-

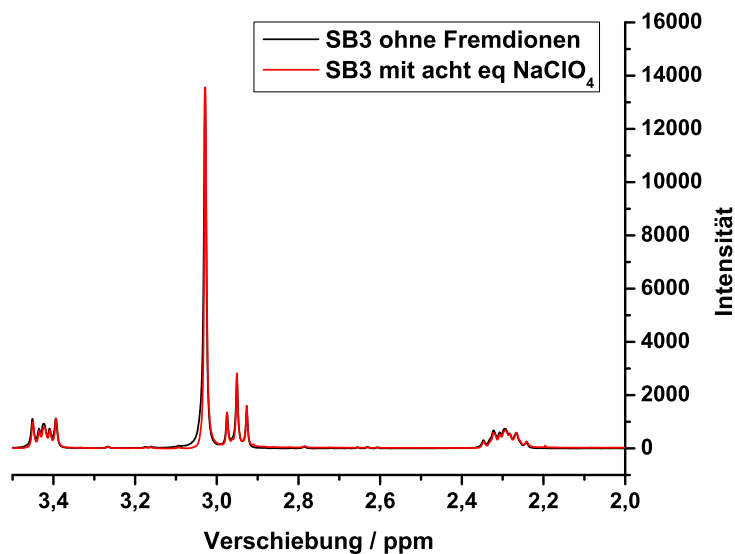


Abbildung 6.21: Überlagerung zweier  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren des Ionomers **SB3**, mit und ohne Zusatz von Fremdionen, Ausschnitt, 400 MHz,  $\text{D}_2\text{O}$ .

NMR-Spektrums hervorruft. Analog zur gezeigten Zugabe von Natriumperchlorat führt auch die Zugabe von Natriumchlorid zu keiner Veränderung des Spektrums.

Des Weiteren ist eine genauere Betrachtung der Kopplungsmuster interessant. Während die ans quartäre Amin gebundenen Methylprotonen bei 3,03 ppm erwartungsgemäß ein Singulett zeigen, sind die Kopplungsmuster der Methylenprotonen zwischen den Ladungen z. T. sehr komplex. Lediglich das Signal bei 2,96 ppm zeigt ein klares Triplett. Bei diesem Signal handelt es sich um die Protonen der Methylengruppe, welche sich in  $\alpha$ -Position zur Sulfonsäure befindet. Es handelt sich also gerade um die Protonen, die nach den Untersuchungen von *Weers et al.*<sup>[134]</sup> auch eine freie Rotation um die C-C-Bindung aufweisen.

Das deutlich komplexere Signal bei 3,43 ppm rührt von den Protonen in  $\alpha$ -Position zum quartären Amin her. Die C-C-Bindung zwischen dieser Methylengruppe und der Methylengruppe in  $\beta$ -Position zum quartären Amin ist – in Übereinstimmung mit den Literaturergebnissen – in ihrer Rotation gehindert und zeigt daher eine komplexere Aufspaltung. Gleiches gilt auch für das Signal bei 2,30 ppm, welches von den Protonen der Methylengruppe in  $\beta$ -Position zum Amin herrührt. Bei Vorliegen einer vollkommen frei drehbaren Einfachbindung müsste dieses Signal ein Doublett vom Doublett zeigen.

Wie die Untersuchungen bei Zugabe von Fremdionen jedoch zeigen, ist dieser Effekt nicht von der Ionenstärke der NMR-Lösung abhängig. Die C-C-Bindung zwischen  $\alpha$ - und  $\beta$ -Methylengruppe – bezogen auf das quartäre Amin – ist somit in jedem Fall zu einem gleichbleibenden Maß rotationsgehindert. Die Hinderung kann also nicht über die Ausbildung eines ringförmigen Ionenpaars erklärt werden. Noch stärker dient das Triplett der dem Schwefel nahen Methylen-



gruppe als Indiz gegen das Vorliegen innerer Ionenpaare. Lägen solche Ionenpaare nämlich vor, sollte zumindest im Spektrum ohne Fremdionenzugabe ein komplexeres Kopplungsmuster für diese Protonen zu erkennen sein.

Die Auswertung der  $^1\text{H}$ -NMR-Spektren des Sulfobetains **SB3** bei Ab- und Anwesenheit von Fremdionen führt somit eindeutig zu dem Ergebniss, dass in wässriger Lösung eine intermolekulare Absättigung der Ladungen stattfindet. Die Ausbildung stabiler innerer Ionenpaare kann nicht beobachtet werden. Gleiches gilt auch für alle vier weiteren Sulfobetainmonomere, die bei Fremdionenzugabe ebenfalls keine Veränderungen der NMR-Spektren aufweisen.

In Bezug auf den späteren chromatographischen Einsatz der zwitterionischen stationären Phasen ist somit nicht mit einer Beeinträchtigung durch die Ausbildung stabiler innerer Ionenpaare zu rechnen. Der Einsatz sehr hoch konzentrierter Eluentlosungen wird demnach nicht notwendig sein, da keine inneren Ionenpaare getrennt werden müssen. Auch kann davon ausgegangen werden, dass die zwitterionischen Monomere im Rahmen der Pffropfpolymerisation als geladene Moleküle vorliegen. Wäre es zur Ausbildung innerer Ionenpaare gekommen, wäre auch die nach außen wirkende Ladung der Moleküle durch intramolekulare Kompensation stark vermindert gewesen.

### 6.2.3 Homopolymerisationsexperimente

Bevor die hergestellten zwitterionischen Monomere jedoch für Pffropfpolymerisationen eingesetzt werden, sollen die Polymerisationseigenschaften der Moleküle im Rahmen von Homopolymerisationsexperimenten untersucht werden. Derartige Untersuchungen wurden bereits erfolgreich von *Rieß* und *Theis* an kationischen und anionischen Monomeren durchgeführt und führten zu einem besseren Verständnis der Reaktionsfähigkeit der Moleküle<sup>[39][118]</sup>. Aus diesem Grund werden auch die zwitterionischen Monomere bezüglich ihrer Homopolymerisationsgeschwindigkeiten untersucht. Die Ergebnisse, die dabei erhalten werden können, sind die Geschwindigkeitskonstanten sowie die Aktivierungsenergien der Homopolymerisationsreaktionen.

Bezüglich der experimentellen Anordnung werden diese Untersuchungen unter Bedingungen durchgeführt, die mit denen der späteren Pffropfpolymerisationen vergleichbar sind. Es werden je 0,415 mmol Ionomer mit 1,1 Äquivalenten Radikalstarter (Kaliumperoxodisulfat, KPS) in 16,7 ml eines Lösungsmittelgemisches aus Aceton/Wasser (1:1) umgesetzt. Dies entspricht von den Verhältnissen her den EVO-Bedingungen (siehe Tabelle 6.7) bis auf den Unterschied, dass im Rahmen der Homopolymerisationen kein PS/DVB zugegeben wird.

Als Ziel dieser Untersuchungen wird eine bessere Anpassung der späteren Reaktionstemperaturen bei den Pfropfpolymerisationen an die Reaktivitäten der zwitterionischen Monomere angestrebt. Bei den Pfropfpolymerisationen ist nämlich nicht die Homopolymerisation von Interesse, sondern die Polymerisation der Monomermoleküle an das PS/DVB-Rückgrat. Zwitterionische Monomere, die sehr hohe Homopolymerisationsgeschwindigkeiten aufweisen, würden daher in der EVO-Reaktionsmischung eher zur Homopolymerisation neigen und demnach Ketten bilden. Die Anbindung solcher Homopolymerketten an das Trägermaterial wird – aufgrund der Größe und der damit einhergehenden Unbeweglichkeit der Ketten – zumindest kinetisch, möglicherweise auch sterisch, gehemmt sein. Zudem führt die Anbindung solcher Ketten nach den Untersuchungen von Rieß zur Bildung stationärer Phasen mit hohen Staudrücken<sup>[39]</sup>.

Es ist demnach wünschenswert, übermäßig schnell ablaufenden Homopolymerisationen durch Anpassung der Reaktionstemperatur entgegenzuwirken. Umgekehrt könnten unreaktive Monomere bei höheren Temperaturen effizienter umgesetzt werden. Für Monomermoleküle können somit – bei vorhandenem Wissen über deren Homopolymerisationsreaktivitäten – Reaktionsbedingungen gefunden werden, unter denen die Anbindung der Monomere an das Grundmaterial optimal verläuft. Zum Vergleich sind in Tabelle 6.3 die Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten der Homopolymerisationen einiger bereits untersuchter Styrollderivate zusammengefasst.

Tabelle 6.3: Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten literaturbekannter Homopolymerisationen von Styrolderivaten.

Monomer	Reaktionstemperatur	Geschwindigkeitskonstante	Halbwertszeit
VB-TMA	343 K	$5,6 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$	20,5 min <sup>[118]</sup>
VP-Essigsäure	343 K	$7,0 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$	16,5 min <sup>[39]</sup>
VB-Phosphonsäure	343 K	$3,1 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$	37,7 min <sup>[39]</sup>

Die in *para*-Position mit ionischen Gruppen funktionalisierten Styrollderivate zeigen bei der gewählten Reaktionstemperatur von 343 K – der Standardtemperatur für EVO-Synthesen – recht ähnliche Geschwindigkeitskonstanten in der Größenordnung von  $10^{-4} \text{ s}^{-1}$ . Die drei Monomere VB-TMA, VP-Essigsäure und VB-Phosphonsäure konnten bereits erfolgreich bei 343 K im Rahmen von EVO-Synthesen auf PS/DVB-Grundkörper gepfropft werden.

Für die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten zwitterionischen Monomere wird daher eine Reaktionstemperatur gesucht, die ebenfalls Geschwindigkeitskonstanten im Bereich von  $10^{-4} \text{ s}^{-1}$  liefert. Bevor jedoch Untersuchungen bezüglich der Geschwindigkeitskonstanten angestellt werden können, muss zunächst festgestellt werden, welcher Reaktionsordnung die Homopolymerisationen zwitterionischer Monomere in der EVO-Synthese folgen.

Für die von *Rieß* und *Theis* untersuchten Monomere<sup>[39][118]</sup> konnten exponentielle Abnahmen der Ionomermengen während der Reaktionsverläufe beobachtet werden. Dies ist der erwartungsgemäße Verlauf von Reaktionen erster Ordnung. Der exponentielle Abfall der Konzentration eines Reaktanden *A* mit einer Geschwindigkeitskonstanten *k* kann dabei über die in Gleichung 6.1 gezeigte Differentialgleichung bzw. deren Lösungen in den Gleichungen 6.2 und 6.3 ausgedrückt werden<sup>[135]</sup>.  $[A]_0$  ist dabei die Konzentration des Reaktanden *A* zu Beginn der Reaktion.

$$\frac{d[A]}{dt} = -k [A] \quad (6.1)$$

$$\ln \frac{[A]}{[A]_0} = -kt \quad (6.2)$$

$$[A] = [A]_0 e^{-kt} \quad (6.3)$$

Die Geschwindigkeitskonstanten der von *Rieß* und *Theis*<sup>[39][118]</sup> durchgeführten Homopolymerisationen hängen somit ausschließlich von den Ionomerkonzentrationen ab. Grundsätzlich müssten für die exakte Ermittlung der Reaktionsordnung solcher Homopolymerisationen jedoch die Geschwindigkeitsgesetze aller an der radikalischen Reaktion beteiligten Elementarreaktionen bestimmt werden. Hierzu zählen die Radikalbildung, die Startreaktion, das Kettenwachstum sowie der Kettenabbruch.

Für die Radikalbildung ist der Radikalstarter Kaliumperoxodisulfat verantwortlich. Dieser Initiator *I* zerfällt thermisch initiiert unter Bildung zweier Sulfatradikalanionen  $R\cdot$  mit einer Geschwindigkeitskonstanten  $k_d$  (siehe Gleichung 6.4).



Für den Zerfall von Peroxodisulfat gilt vereinfacht eine Reaktion erster Ordnung<sup>[136]</sup>. Es ergibt sich daher für die Reaktionsgeschwindigkeit des Zerfalls des Initiators *I* die Differentialgleichung 6.5.

$$-\frac{d[I]}{dt} = k_d [I] \quad (6.5)$$

Die Geschwindigkeitskonstante dieses Zerfalls liegt mit  $7 \cdot 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  bei 343 K vom Zahlenwert deutlich höher als die Geschwindigkeitskonstanten radikalischer Reaktionen. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist daher deutlich niedriger<sup>[137]</sup>. Im zweiten Reaktionsschritt wird durch das

Initiatorradikal die Startreaktion eingeleitet, indem ein Ionomerradikal  $M\cdot$  erzeugt wird (siehe Gleichung 6.6).



Aufgrund der niedrigen Zerfallsgeschwindigkeit  $k_d$  des Initiators  $I$  im Vergleich zu radikalischen Reaktionen stellt der Initiatorzerfall den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Startreaktion dar. Die Geschwindigkeitskonstante  $k_i$  der Radikalübertragung kann daher vernachlässigt werden. Für die Reaktionsgeschwindigkeit der Startreaktion ergibt sich aus Kombination der obigen Gleichungen die nachfolgende Differentialgleichung 6.7.

$$-\frac{d[I]}{dt} = \frac{1}{2} \frac{d[M\cdot]}{dt} = k_d [I] \quad (6.7)$$

Nun muss jedoch noch berücksichtigt werden, dass nicht jedes Sulfatradikalanion eine Radikalübertragung und damit ein Kettenwachstum auslöst, sondern nur ein definierter Bruchteil  $f$ . Für die Reaktionsgeschwindigkeit der Startreaktion gilt demnach:

$$r_i = \frac{d[M\cdot]}{dt} = 2 f k_d [I] \quad (6.8)$$

Im weiteren Verlauf der radikalischen Reaktion kommt es zum Kettenwachstum, gleichzeitig jedoch durch Rekombination oder Disproportionierung zweier Radikale auch zu Kettenabbruchsreaktionen. Die mittlere Bruttopolymerisationsgeschwindigkeit  $R_p$  hängt daher von allen drei Geschwindigkeitskonstanten, also von den Reaktionsgeschwindigkeiten der Initiierungs-, Kettenwachstums- und Kettenabbruchsreaktion, ab. Für all diese Elementarreaktionen können – analog den für die Startreaktion gezeigten Ausführungen – Differentialgleichungen für die Reaktionsgeschwindigkeiten hergeleitet werden. Für eine detaillierte Beschreibung der einzelnen Schritte sei an dieser Stelle jedoch auf die einschlägige Fachliteratur verwiesen<sup>[138][139]</sup>. Die Ergebnisse dieser Herleitungen sind für die Reaktionsgeschwindigkeiten der Kettenwachstums- ( $r_p$ ) und Kettenabbruchsreaktion ( $r_t$ ) in den Gleichungen 6.9 und 6.10 gezeigt.

$$r_p = -\frac{d[M]}{dt} = k_p [M] [M\cdot] \quad (6.9)$$

$$r_t = -\frac{d[M\cdot]}{dt} = k_t [M\cdot] [M\cdot] \quad (6.10)$$

Problematisch ist bei all diesen Differentialgleichungen jedoch, dass grundsätzlich die genaue Konzentration an Ionomer- bzw. Kettenradikalen – also  $[M\cdot]$  – nicht bekannt ist. Da jedoch

immer neue Initiator-moleküle zu Radikalen zerfallen, also neue Startradikale  $R\cdot$  nachgeliefert werden, gleichzeitig aber auch ein statistisch definierter Prozentsatz der radikalischen Reaktionen zum Kettenabbruch führen, kommt es im Reaktionsverlauf zur Ausbildung eines stationären Zustands. In diesem stationären Zustand sind Radikalbildung und Radikalverbrauch – genauer gesagt deren Reaktionsgeschwindigkeiten  $r_i$  und  $r_t$  – gleich groß und es liegt daher eine konstante Konzentration an Ionomerradikalen  $[M\cdot]$  vor. Unter dieser Voraussetzung kann der Term  $[M\cdot]$  durch Umformung über  $r_i$  ausgedrückt werden.

Werden nun die einzelnen Geschwindigkeitskonstanten der Elementarreaktionen zu einer Gesamtgeschwindigkeitskonstanten  $k_{ges}$  zusammengefasst und alle  $[M\cdot]$  substituiert, kann eine Differentialgleichung für die Bruttopolymerisationsgeschwindigkeit  $R_p$  aufgestellt werden (Gleichung 6.11).

$$R_p = -\frac{d[M]}{dt} = k_{ges} [I]^{1/2} [M] \quad (6.11)$$

Die Bruttoreaktionsgeschwindigkeit ist somit direkt proportional zur Monomerkonzentration, während sie von der Quadratwurzel der Initiatorkonzentration abhängig ist. Zur weiteren Vereinfachung kann zumindest zu Beginn der Reaktion davon ausgegangen werden, dass die Initiatorkonzentration  $[I]$  quasi konstant ist. Speziell bei der Reaktionsführung der EVO-Synthese, unter Verwendung des Radikalstarters in stöchiometrischen Mengen, ändert sich die Initiatorkonzentration  $[I]$  im Vergleich zur Monomerkonzentration  $[M]$  über eine geraume Zeit nicht nennenswert. Somit kann die Bruttoreaktionsgeschwindigkeit  $R_p$  zu Gleichung 6.12 reduziert werden.

$$R_p = -\frac{d[M]}{dt} = k_{ges} [M] \quad (6.12)$$

Für die Abhängigkeit der Reaktionsgeschwindigkeit von der Monomerkonzentration ergibt sich somit ein Geschwindigkeitsgesetz pseudo-erster Ordnung, dessen Lösung analog Gleichung 6.2 die folgende Form aufweist (Gleichung 6.13).

$$\ln \frac{[M]}{[M]_0} = -k_{ges} t \quad (6.13)$$

Für eine radikalische Polymerisation unter EVO-Bedingungen liefert also die Auftragung des natürlichen Logarithmus der Monomerkonzentration – normiert auf die Anfangsmonomerkonzentration – gegen die Reaktionszeit einen linearen Zusammenhang, dessen Steigung der Geschwindigkeitskonstanten  $k_{ges}$  der Polymerisationsreaktion entspricht.

Für die Bestimmung der Geschwindigkeitskonstanten der Homopolymerisationen zwitterionischer Monomere ist es sinnvoll, die Experimente nicht nur bei einer Temperatur von 343 K durchzuführen, sondern auch bei weiteren Reaktionstemperaturen. So ist es möglich, Reaktionstemperaturen zu finden, bei denen die zwitterionischen Monomere gerade die gewünschten Geschwindigkeitskonstanten im Bereich von  $10^{-4} \text{ s}^{-1}$  aufweisen. Zudem liefert die Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten von der Reaktionstemperatur  $T$  über die *Arrhenius*-Gleichung die Aktivierungsenergie  $E_A$  der Homopolymerisationsreaktionen (Gleichung 6.14)<sup>[135]</sup>.

$$\ln k = \ln A - \frac{[E_A]}{R T} \quad (6.14)$$

Die Auftragung des natürlichen Logarithmus der Geschwindigkeitskonstanten gegen  $1/T$  ergibt somit als Steigung das Verhältnis aus Aktivierungsenergie  $E_A$  und idealer Gaskonstanten  $R$ .

Für die fünf zwitterionischen Monomere **SB1** bis **SB5** werden daher jeweils drei Homopolymerisationsexperimente bei 323 K, 333 K und 343 K durchgeführt. Die Monomere werden im temperierten Lösungsmittelgemisch unter Inertgasatmosphäre zunächst für 10 min vorgewärmt. Nach dieser Zeit wird eine Probe mit einem Volumen von  $100 \mu\text{l}$  entnommen und in ein Glasgefäß mit 9,9 ml Eiswasser gegeben. Die Eiskühlung soll bei späteren Probennahmen schlagartig die Polymerisation stoppen. Die erste Probe, die noch ohne Zusatz des Radikalstarters entnommen wird, liefert die Anfangskonzentration  $[M]_0$  des Monomers.

Nach Entnahme der ersten Probe wird unverzüglich der Radikalstarter in einer Portion als Feststoff zum Lösungsmittelgemisch gegeben. Im Anschluss daran werden nach 1 min, 2 min etc. in größer werdenden Abständen – bis zu einer Reaktionszeit von vier Stunden nach Radikalstarterzugabe – Proben entnommen.

Zur Bestimmung der Monomerkonzentrationen in den Probelösungen wird die RP-HPLC eingesetzt. Die Monomere werden dabei von polymeren Bestandteilen getrennt und der Monomergehalt kann über Integration der Peakflächen quantifiziert werden. Als Eluent kommt ein Gemisch aus Reinstwasser/Methanol/Puffer im Verhältnis 50:30:20 zum Einsatz, wobei als Pufferlösung eine wässrige Phosphatlösung der Konzentration 25 mmol/l bei einem pH-Wert von 3,0 verwendet wird. Die eingesetzte Trennsäule ist eine Nucleosil C-18-Trennsäule (Fa. Macherey-Nagel, Düren). Beispielhaft sind in Abbildung 6.22 die Chromatogramme der Homopolymerisationsproben des Sulfobetains **SB1** bei einer Reaktionstemperatur von 343 K hintereinandergelegt.

Aus diesen Chromatogrammen wird bereits deutlich, dass die Monomerkonzentration mit steigender Reaktionszeit abnimmt, bis – im Falle des Ionomers **SB1** – nach 120 min Reaktionszeit kein Monomer mehr detektiert werden kann, bzw. die Monomerkonzentration unterhalb der Nachweisgrenze der HPLC-Methode liegt. Signale von Homopolymerketten können für keines der Monomere gefunden werden. Das kleine, abnehmende Signal bei 2,1 min rührt von dem

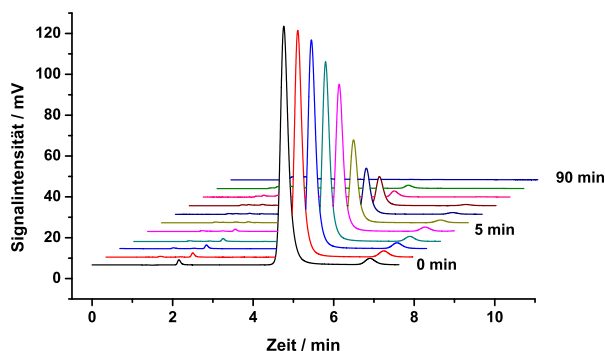


Abbildung 6.22: Auftragung der RP-HPLC-Messungen der Homopolymerisationsproben für das Sulfobetainmonomer **SB1** bei einer Reaktionstemperatur von 343 K. Eluent: Reinstwasser/Methanol/Puffer (25 mmol/l Phosphat, pH 3,0) im Verhältnis 50:30:20, Trennsäule: Nucleosil C-18 (150 mm × 4 mm, 7  $\mu$ m Partikelgröße, Macherey-Nagel, Düren), UV-Detektion bei 254 nm, Säulentemperatur: 308 K, Probenschleife: 20  $\mu$ l.

im Reaktionsgemisch vorhandenen Aceton her. Aceton als Lösungsmittelbestandteil wird über die Reaktionszeit bei 343 K durch den Inertgasstrom – der lediglich über die Reaktionslösung geleitet wird – ausgetragen. Aufgrund der mangelnden Linearität der Z-Skala der hintereinander gelegten Chromatogramme, ist ein exponentieller Abfall der Monomerkonzentration allerdings noch nicht klar ersichtlich. Dies ändert sich, wenn die ermittelten Monomerkonzentrationen – normiert auf die Anfangskonzentration – gegen die Reaktionszeit aufgetragen werden. Dies ist in Abbildung 6.23 für alle Ionomere bei den drei untersuchten Reaktionstemperaturen dargestellt.

Betrachtet man diese fünf Auftragungen fällt bereits auf, dass sich die zwitterionischen Monomere mit unterschiedlichen Abständen zwischen den Ladungen größtenteils recht ähnlich verhalten. Alle Sulfobetainmonomere liefern bei allen Temperaturen exponentielle Abfälle der Monomerkonzentrationen mit der Reaktionszeit. Erwartungsgemäß wird auch für alle Ionomere bei Steigerung der Reaktionstemperatur ein stärkerer exponentieller Abfall der Monomerkonzentration beobachtet. Zudem zeigen die Ionomere **SB1** bis **SB4** auf den ersten Blick recht ähnliche Kurvenverläufe. Lediglich das Sulfobetainmonomer **SB5** weist bei allen Temperaturen Monomerabnahmen auf, die deutlich langsamer verlaufen, als es bei den anderen Homologen in der Reihe der Fall ist. Das Monomer **SB5** scheint diesbezüglich also eine Sonderrolle einzunehmen.

Besser als die rein optische Bewertung der exponentiellen Abfälle eignen sich jedoch die Geschwindigkeitskonstanten der Reaktionen, um Aussagen über die Reaktivitäten der Monomere

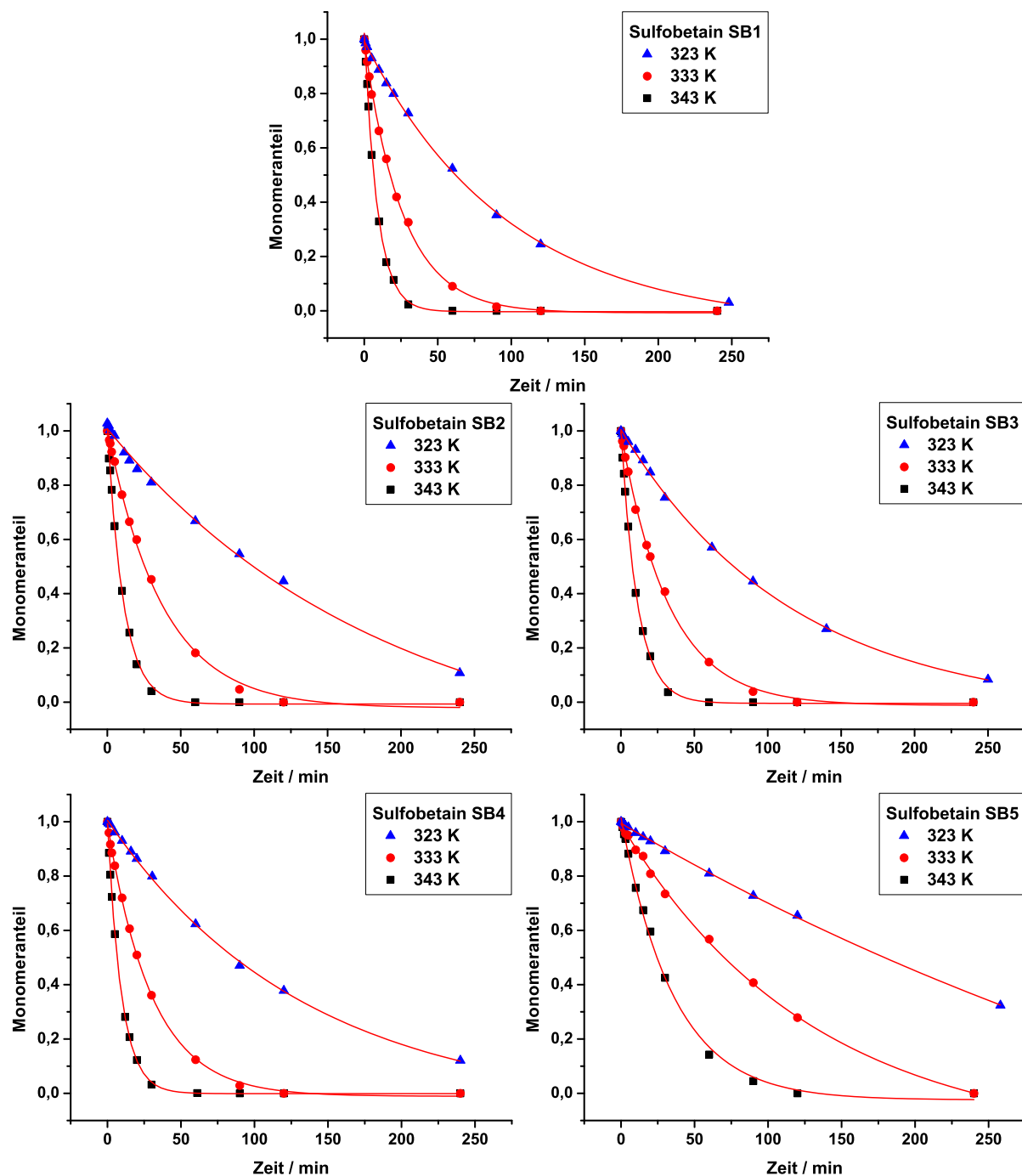


Abbildung 6.23: Auftragungen der Monomerabnahmen während der Homopolymerisationen für die Sulfobetainmonomere **SB1** bis **SB5**.



zu treffen. Neben den Geschwindigkeitskonstanten ermöglicht besonders die Betrachtung der Halbwertszeiten der Monomerkonzentrationen eine greifbare Beurteilung der Reaktivitäten. Die Halbwertszeiten können zum einen direkt aus den Auftragungen der exponentiellen Abfälle gewonnen werden, sie können jedoch auch rechnerisch aus den Geschwindigkeitskonstanten über den Zusammenhang aus Gleichung 6.15 ermittelt werden.

$$t_{\frac{1}{2}} = \frac{\ln 2}{k} \quad (6.15)$$

Um diese quantitativen Betrachtungen anstellen zu können, werden zunächst die Auftragungen nach Gleichung 6.13 angefertigt. Diese sind in Abbildung 6.24 am Beispiel der Reaktionstemperatur von 333 K für alle fünf zwitterionischen Monomere zusammengefasst.

Zunächst ist bei diesen Auftragungen klar zu erkennen, dass die Zusammenhänge zweifelsfrei linear sind und die Ausgleichsgeraden für alle Ionomere gute Bestimmtheitsmaße aufweisen ( $R^2 > 0,999$ ). In der Folge kann auch für die zwitterionischen Monomere festgestellt werden, dass deren Homopolymerisationen radikalische Reaktionen pseudo-erster Ordnung darstellen. Die zwitterionischen Monomere unterscheiden sich in dieser Hinsicht nicht von anionischen oder kationischen Styrolderivaten.

Neben den Ausgleichsgeraden sind in den Auftragungen bereits die Steigungen dieser Ausgleichsgeraden – also die Geschwindigkeitskonstanten – für die Reaktionstemperatur von 333 K angegeben. Diese Zahlenwerte verdeutlichen die bereits angemerkten Ähnlichkeiten der Sulfobetainmonomere **SB1** bis **SB4** sowie das abweichende Verhalten des Monomers **SB5**. Während die Ionomere **SB1** bis **SB4** Geschwindigkeitskonstanten zwischen  $4,7 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  und  $6,6 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  besitzen, liegt die Geschwindigkeitskonstante des Sulfobetainmonomers **SB5** mit  $1,7 \cdot 10^{-4} \text{ s}^{-1}$  vom Zahlenwert her deutlich höher. Die Reaktionsgeschwindigkeit der Homopolymerisation ist damit für das Ionomer **SB5** niedriger.

Zum besseren Vergleich sind die Geschwindigkeitskonstanten sowie die Halbwertszeiten der Homopolymerisationsreaktionen aller fünf Ionomere bei allen drei Temperaturen in den Tabellen 6.4 und 6.5 zusammengefasst.

Tabelle 6.4: Geschwindigkeitskonstanten der untersuchten Homopolymerisationen bei verschiedenen Temperaturen.

Temperatur	$k \text{ SB1} / \text{s}^{-1}$	$k \text{ SB2} / \text{s}^{-1}$	$k \text{ SB3} / \text{s}^{-1}$	$k \text{ SB4} / \text{s}^{-1}$	$k \text{ SB5} / \text{s}^{-1}$
323 K	$1,8 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$5,8 \cdot 10^{-5}$
333 K	$6,6 \cdot 10^{-4}$	$4,7 \cdot 10^{-4}$	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \cdot 10^{-4}$
343 K	$2,0 \cdot 10^{-3}$	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$1,7 \cdot 10^{-3}$	$1,9 \cdot 10^{-3}$	$4,7 \cdot 10^{-4}$

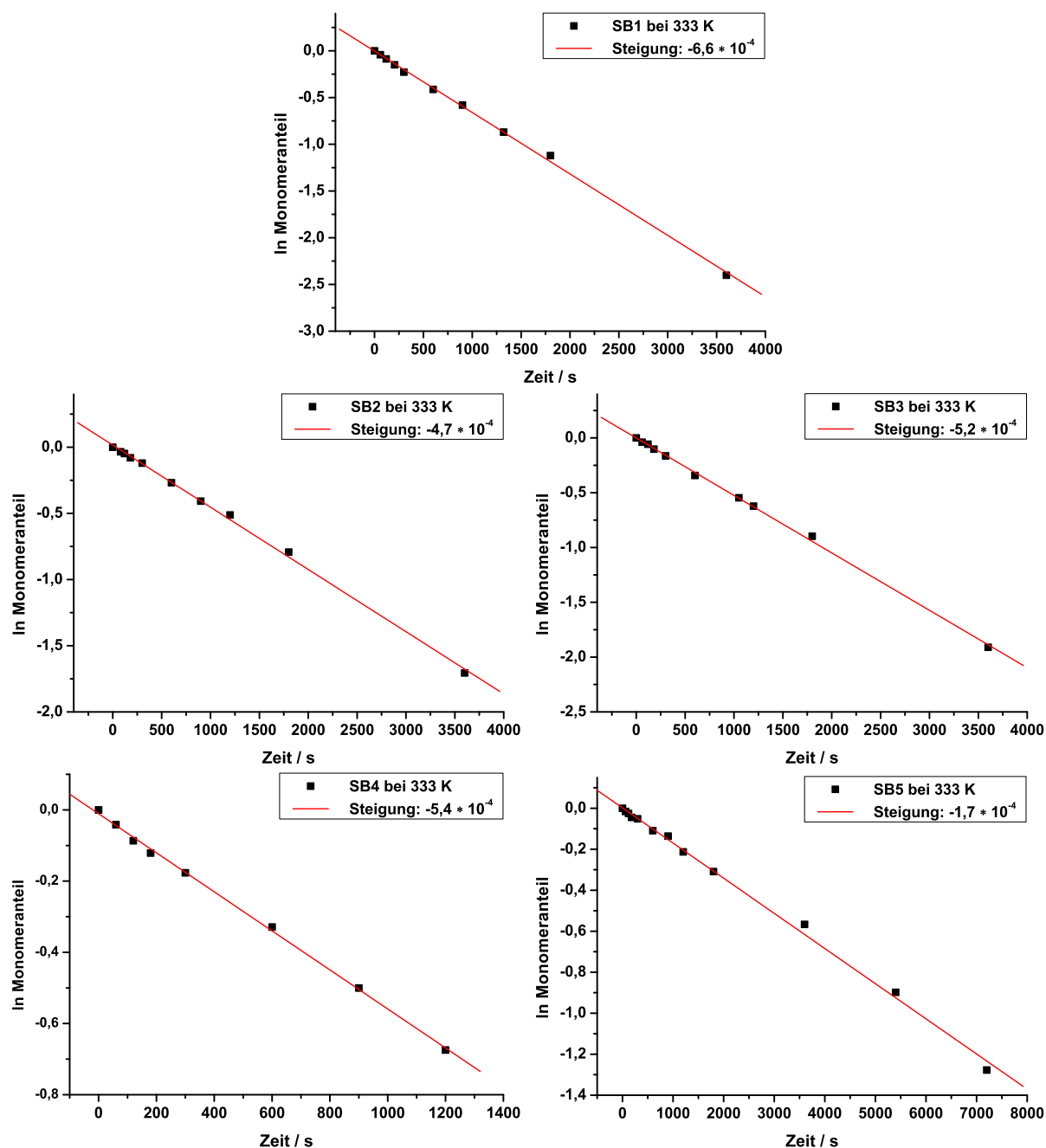


Abbildung 6.24: Auftragungen der natürlichen Logarithmen der Monomeranteile gegen die Reaktionszeiten für die Sulfobetainmonomere **SB1** bis **SB5**.

Tabelle 6.5: Halbwertszeiten der untersuchten Monomere bei verschiedenen Temperaturen.

Temperatur	$t_{\frac{1}{2}}$ <b>SB1</b> / min	$t_{\frac{1}{2}}$ <b>SB2</b> / min	$t_{\frac{1}{2}}$ <b>SB3</b> / min	$t_{\frac{1}{2}}$ <b>SB4</b> / min	$t_{\frac{1}{2}}$ <b>SB5</b> / min
323 K	65,3	101,3	74,5	84,3	198,8
333 K	17,6	24,6	22,0	21,4	67,4
343 K	5,7	6,6	7,0	6,2	24,7

Besonders der Blick auf die Halbwertszeiten des Monomerabbaus bestätigt die zuvor getroffenen Aussagen. So liegen z. B. die Halbwertszeiten der Ionomerkonzentrationen für die Monomere **SB1** bis **SB4** bei einer Reaktionstemperatur von 333 K zwischen 17,6 min und 24,6 min. Das Ionomer **SB2** zeigt eine um etwa 40% längere Halbwertszeit als das schnellste Sulfobetainmonomer **SB1**. Die Halbwertszeit des Monomers **SB5** liegt mit 67,4 min hingegen um mehr als 300% höher. Dieses Ionomer reagiert also deutlich langsamer.

Dieses außergewöhnliche Verhalten kann allerdings im Rahmen von Homopolymerisationsuntersuchungen nur beobachtet, die Ursache hierfür jedoch nicht eindeutig geklärt werden. Unterschiedliche Reaktionsgeschwindigkeiten von Molekülen in radikalischen Reaktionen rühren grundsätzlich von unterschiedlichen Stabilisierungen der radikalischen Zwischenprodukte her. Prinzipiell sind Styrolderivate in der Lage, die gebildeten Radikale über Mesomerie zu stabilisieren. Diese Stabilisierung ist in Abbildung 6.25 beispielhaft für das Sulfobetainradikal **SB1** anhand der mesomeren Grenzstrukturen gezeigt.

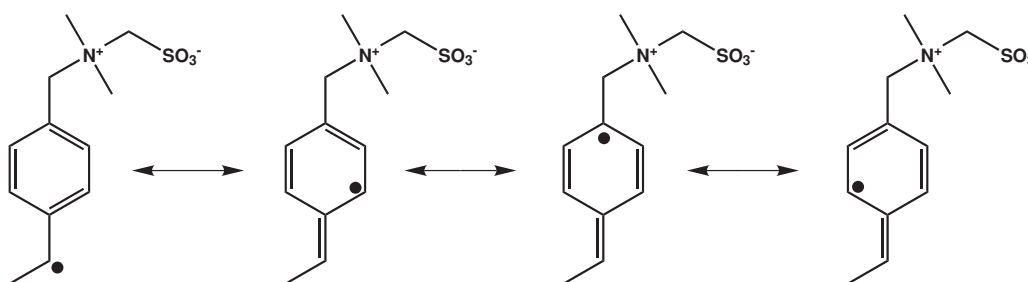


Abbildung 6.25: Mesomere Grenzstrukturen die für das Sulfobetainradikal **SB1** zu einer Stabilisierung führen.

Wie aus diesen Strukturen ersichtlich wird, kommt für die Mesomeriestabilisierung lediglich der aromatische Ring in Betracht. Ein Unterschied der Radikalstabilitäten der Sulfobetainradikale kann daher höchstens über die Stabilisierung der dritten Grenzstruktur von links durch eine elektronenziehende Gruppe in *para*-Position zustandekommen. Ein quartäres Ammoniumion ist grundsätzlich eine funktionelle Gruppe mit Elektronenmangel, diese sollte also einen elektronenziehenden Effekt aufweisen und daher das Radikal stabilisieren. Nun stellt sich jedoch die Frage nach dem Unterschied zwischen den fünf zwitterionischen Monomeren. Diese unterscheiden sich lediglich im Abstand zwischen Amin und Sulfonsäure.

Für kurze Abstände der beiden Gruppen könnte man annehmen, dass die elektronenreiche Sulfonsäure den Elektronenmangel am Amin zumindest teilweise ausgleicht, die elektronenziehende Wirkung desamins sollte demnach abgeschwächt werden. Entsprechend müsste das Sulfobetainradikal **SB1** am wenigsten stabil sein und die kürzesten Halbwertszeiten aufweisen. Dies ist für alle untersuchten Temperaturen der Fall. Vergrößert man nun jedoch den Abstand zwischen den Ladungen, wird die Wirkung der Sulfonsäure mit steigendem Abstand zum Amin

immer geringer. Die Radikale sollten also zunächst etwas stabiler werden und ab einem gewissen Abstand der Ladungen keine Veränderung der Geschwindigkeitskonstanten und Halbwertszeiten mehr aufweisen. Die Sulfobetainmonomere **SB2** bis **SB4** zeigen zwar noch leichte Unterschiede, liegen speziell bei 333 K jedoch sehr dicht beisammen. Da sich die elektronenziehende Wirkung funktioneller Gruppen für gewöhnlich nur über sehr kurze Abstände von wenigen Methylengruppen hinweg auswirkt, sollte spätestens zwischen dem Sulfobetain **SB4** und dem Sulfobetain **SB5** kein Unterschied mehr in der Elektronendichte des quartären Amins vorhanden sein.

Die elektronenziehende Wirkung des Amins kann folglich nicht zur Erklärung des besonderen Verhaltens des Sulfobetainmonomers **SB5** herangezogen werden. Neben der elektronischen Stabilisierung radikalischer Zwischenstufen können diese jedoch auch sterisch stabilisiert werden. Das Paradebeispiel für sterisch stabilisierte Radikale ist das Triphenylmethylradikal, welches unter Ausschluss von Sauerstoff sogar in Lösung dauerhaft stabil ist<sup>[140][141]</sup>. Selbstverständlich ist der sterische Anspruch einer frei beweglichen Sulfobetainkette nicht vergleichbar mit der dreier Phenylgruppen an einem C-Atom. Dennoch könnte die hohe Beweglichkeit der langen Seitenkette des Sulfobetains **SB5**, welches genau wie die anderen Moleküle keine inneren Ionenpaare bildet (siehe Punkt 6.2.2), den Unterschied in den Halbwertszeiten bei der Homopolymerisation ausmachen. Um dies genauer betrachten zu können, wäre jedoch die Untersuchung der weiteren Homologen aus der Reihe mit sechs und mehr Methylengruppen zwischen den Ladungen notwendig. Die Ursache für die deutlich verminderte Reaktivität des Sulfobetainmonomers **SB5** kann an dieser Stelle daher nur festgestellt und Gründe dafür vermutet werden.

Neben den Geschwindigkeitskonstanten und den Halbwertszeiten können aus den erhaltenen Daten zusätzlich noch die Aktivierungsenergien der Homopolymerisationsreaktionen ermittelt werden. Hierzu werden die natürlichen Logarithmen der Geschwindigkeitskonstanten gegen die reziproke Temperatur aufgetragen. Dies ist für alle fünf zwitterionischen Monomere in Abbildung 6.26 dargestellt.

Auch aus dieser Abbildung wird der Unterschied der Geschwindigkeitskonstanten zwischen den Sulfobetainmonomeren **SB1** bis **SB4** und dem Monomer **SB5** ersichtlich. Viel entscheidender sind in dieser Darstellung jedoch die Ausgleichsgeraden. Diese weisen grundsätzlich wieder sehr gute Bestimmtheitsmaße auf und zeigen nur geringe Unterschiede zwischen den einzelnen Ionomeren. Die Steigungen der Ausgleichsgeraden liegen zwischen 11,6 und 15,1.

Auch bezüglich der Steigungen der Ausgleichsgeraden nimmt das Sulfobetain **SB5** eine Stellung als Extremwert ein, die Steigung fällt mit 11,6 am geringsten aus. Im Gegensatz zu den bisherigen Untersuchungen weist die Steigung des Monomers **SB5** – und damit auch die daraus zu errechnende Aktivierungsenergie – jedoch keinen so großen Abstand zu den Steigungswerten der übrigen Monomere auf. So liegt die Steigung der Ausgleichsgerade für das Ionomer **SB3**

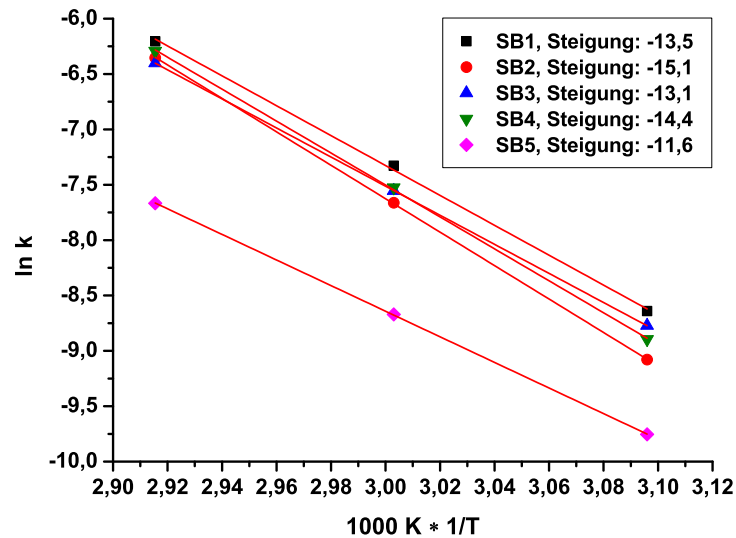


Abbildung 6.26: Auftragungen aus der *Arrhenius*-Gleichung zur Bestimmung der Aktivierungsenergien aller fünf zwitterionischen Monomere.

auch nur bei 13,1 und somit nur etwa 13% über dem Zahlenwert für die Steigung des Monomers **SB5**. Gleiches gilt auch für die Aktivierungsenergien, die in Tabelle 6.6 zusammengefasst sind.

Tabelle 6.6: Aktivierungsenergien und Achsenabschnitte der *Arrhenius*-Auftragungen für die fünf zwitterionischen Monomere.

Größe	SB1	SB2	SB3	SB4	SB5
$E_A$ / kJ/mol	112	126	109	120	96
$A$ / s <sup>-1</sup>	$2,5 \cdot 10^{14}$	$2,3 \cdot 10^{16}$	$7,1 \cdot 10^{13}$	$3,4 \cdot 10^{15}$	$2,0 \cdot 10^{11}$

Die Aktivierungsenergien liegen mit 96 kJ/mol bis 126 kJ/mol allesamt oberhalb der Aktivierungsenergie für die radikalische Polymerisation von Styrol (85 kJ/mol)<sup>[142]</sup>. Zudem liegen die Werte ebenfalls oberhalb der Aktivierungsenergien für die radikalischen Polymerisationen anionischer Styrolerivate (83 kJ/mol bis 89 kJ/mol), wie sie von *Theis* untersucht wurden<sup>[135]</sup>. In der Praxis bedeutet dies, dass die zwitterionischen Monomere eine stärkere Abhängigkeit der Geschwindigkeitskonstanten von der Reaktionstemperatur aufweisen.

Neben den Aktivierungsenergien sind in Tabelle 6.6 auch die Achsenabschnitte  $A$  ( $\ln A$  in der logarithmierten Form der Gleichung 6.14) der *Arrhenius*-Auftragung zusammengefasst. Der  $A$ -Term dieser Gleichung setzt sich aus dem Häufigkeitsfaktor bzw. der Stoßzahl  $Z$  und einem sterischen Faktor  $P$  zusammen (Gleichung 6.16).

$$A = P \cdot Z \quad (6.16)$$

Der Grund für die Einführung des sterischen Faktors ist die Tatsache, dass für komplexere Moleküle die experimentell ermittelten Stoßzahlen häufig deutlich unter den theoretisch zu erwartenden liegen. Die Stoßtheorie liefert nämlich grundsätzlich nur für Gasphasenreaktionen kugelsymmetrischer Teilchen gute Ergebnisse. Bei anders geformten Molekülen bzw. sterisch anspruchsvolleren Teilchen führt jedoch aufgrund der Topologie nicht jeder theoretisch zu erwartende Stoß zwischen zwei Teilchen, der auch eine ausreichende Energie besitzt, zur chemischen Reaktion. Der sterische Faktor  $P$  ist für sterisch stark gehinderte Moleküle deutlich kleiner eins. Zur theoretischen Berechnung solcher sterischer Faktoren wurde z. B. die komplexe *Eyring*-Theorie des Übergangszustands entwickelt<sup>[143]</sup>.

Aus experimenteller Sicht liefert der  $A$ -Term die tatsächliche Anzahl an erfolgreichen Stößen zwischen zwei Molekülen pro Zeit- und Volumeneinheit, die letztlich zur chemischen Reaktion führen. Umso größer der  $A$ -Term ist, desto reaktiver sind die Moleküle. Im Einklang mit den bisher gezeigten kurzen Halbwertszeiten der zwitterionischen Moleküle im Vergleich zu anionischen oder kationischen Monomeren (vgl. Tabelle 6.3), zeugen auch die hohen Stoßzahlen von einer erhöhten Reaktivität der Sulfobetainmonomere. So liegen z. B. die Stoßzahlen anionischer Monomere – für welche die Standard-EVO-Reaktionsbedingungen optimiert wurden – bei maximal  $4,0 \cdot 10^{10} \text{ s}^{-1}$ <sup>[118]</sup>, also eine Größenordnung unter der Stoßzahl des am langsamsten reagierenden Monomers **SB5**.

Vergleicht man die  $A$ -Terme der zwitterionischen Monomere untereinander, ergibt sich für die Monomere **SB1** bis **SB4** kein klarer Trend. Das Monomer **SB2** zeigt die höchste Stoßzahl, ebenso wie die höchste Aktivierungsenergie, gefolgt vom Ionomer **SB4** mit der zweithöchsten  $E_A$  und der zweithöchsten Stoßzahl. Generell wird beobachtet, dass die Stoßzahlen und die Aktivierungsenergien korrelieren, d. h. die Moleküle mit hohen Stoßzahlen haben auch hohe Aktivierungsenergien, diejenigen mit niedrigen Stoßzahlen, niedrige Aktivierungsenergien. Die mit Abstand niedrigste Stoßzahl weist auch hier das Sulfobetainmonomer **SB5** auf. Der  $A$ -Term für dieses Molekül liegt mit  $2,0 \cdot 10^{11} \text{ s}^{-1}$  um zwei Größenordnungen unter dem des nächstreaktiven zwitterionischen Monomers **SB3**.

Wie bereits geschildert, setzt sich der  $A$ -Term für nicht kugelsymmetrische Teilchen bzw. Moleküle grundsätzlich aus der Stoßzahl  $Z$  und einem sterischen Faktor  $P$  zusammen. Die Stoßzahl  $Z$  ist wiederum abhängig vom Stoßquerschnitt – also letztlich den Teilchendurchmessern – sowie den reduzierten Massen der Stoßpartner. Bereits in  $Z$  geht also über den Stoßquerschnitt ein Parameter ein, der direkt proportional zum Teilchendurchmesser ist. Größere kugelsymmetrische Reaktanden sollten höhere Stoßzahlen aufweisen. Die reduzierten Massen sind indirekt proportional zur Stoßzahl, sie sollten sich jedoch für die untersuchten Sulfobetainmonomere mit unterschiedlichen Kettenlängen nicht dramatisch voneinander unterscheiden. Für die größerwerdenden Sulfobetaine sollte die reine Betrachtung der Stoßzahl  $Z$  also zu einer Erhöhung

des A-Terms mit steigender Kettenlänge führen. Die Argumentation über die Stoßzahl erklärt somit nicht die experimentell bestimmten Werte mit abnehmenden Achsabschnitten. Für die ermittelten A-Terme scheint also der sterische Faktor  $P$  den entscheidenden Einfluss zu haben. Nur eine besonders große sterische Hinderung des Sulfobetainradikals **SB5** und damit ein besonders kleiner Wert für  $P$  kann die gefundenen Ergebnisse erklären.

Somit bestätigt die Betrachtung der A-Terme die Vermutung, dass das Sulfobetainmonomer **SB5** aufgrund der großen Kettenlänge eine besondere sterische Hinderung erfährt. Auch hier wäre jedoch die Untersuchung an den weiteren Homologen aus der Reihe mit sechs und mehr Methylengruppen zwischen den Ladungen notwendig, um die getroffenen Aussagen zu sichern.

Die Ergebnisse der Homopolymerisationsexperimente zusammenfassend, kann festgestellt werden, dass die zwitterionischen Monomere deutlich höhere Reaktivitäten aufweisen, als z. B. anionische Styrolderivate. In Bezug auf die Herstellung stationärer Phasen bietet es sich also an, spätere Pfropfpolymerisationen der zwitterionischen Monomere nicht bei der Standardreaktionstemperatur von 343 K, sondern bei einer Reaktionstemperatur von 333 K durchzuführen. Obwohl das Ionomer **SB5** eine deutlich niedrigere Reaktivität als die anderen zwitterionischen Monomere aufweist, liegen bei dieser Temperatur die Geschwindigkeitskonstanten aller fünf Sulfobetainmonomere in der gewünschten Größenordnung von  $10^{-4} \text{ s}^{-1}$ .

#### 6.2.4 Polaritätsbestimmungen der zwitterionischen Monomere

Die gezeigten Homopolymerisationsexperimente liefern neben den Geschwindigkeitskonstanten und Aktivierungsenergien jedoch noch eine weitere interessante Kenngröße der zwitterionischen Monomere. Zur Quantifizierung der Monomergehalte der Probenlösungen werden RP-HPLC-Untersuchungen angestellt. Im Rahmen der HPLC-Trennungen sollen die noch nicht umgesetzten zwitterionischen Monomere von polymeren Bestandteilen getrennt werden. Zwar war die Bestimmung von Homopolymerketten im Rahmen der HPLC-Trennungen nicht möglich, die fünf Monomere konnten jedoch mit einem guten Abstand vom Totvolumen eluiert werden.

Da im Rahmen von RP-HPLC-Trennungen Analyten grundsätzlich in Abhängigkeit ihrer Polaritäten retardiert werden, sollen die Retentionszeiten der fünf Ionomere in der HPLC-Trennung etwas genauer betrachtet werden. Über diesen Vergleich kann festgestellt werden, inwiefern sich die Kettenlänge der Sulfobetainmonomere auf deren Polarität auswirkt. In Abbildung 6.27 sind die Chromatogramme der Homopolymerisationsexperimente aller fünf Sulfobetainmonomere bei einer Reaktionszeit von 0 min übereinandergelegt.

Die Retentionszeiten der zwitterionischen Monomere variieren – unter identischen chromatographischen Bedingungen – zwischen 3,50 min und 4,73 min. Die einzelnen Ionomere weisen also

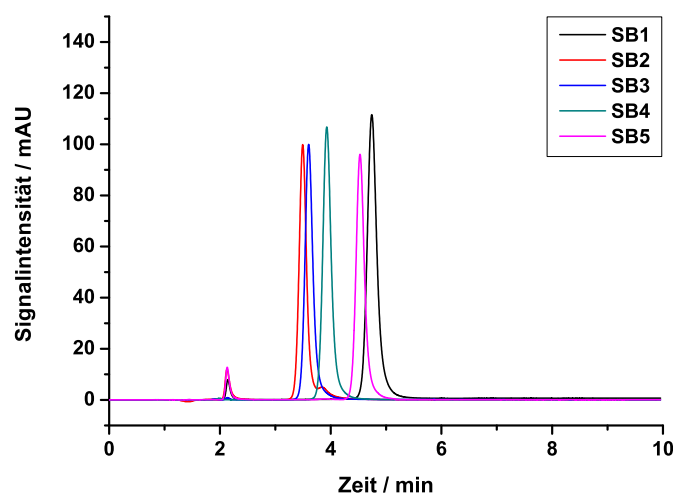


Abbildung 6.27: HPLC-Messungen der zwitterionischen Monomere im Rahmen von Homopolymerisationsexperimenten. Eluent: Reinstwasser/Methanol/Puffer (25 mmol/l Phosphat, pH 3,0) im Verhältnis 50:30:20, UV-Detektion bei 254 nm, Trennsäule: Nucleosil C-18 (150 mm × 4 mm, 7  $\mu$ m Partikelgröße, Macherey-Nagel, Düren), Säulentemperatur: 308 K, Probenschleife: 20  $\mu$ l.

deutlich unterschiedliche Polaritäten auf. Besonders interessant ist dabei, dass die fünf Monomere keinen einheitlichen Trend zeigen. Das Sulfobetainmonomer **SB1** liefert z. B. die höchste Retentionszeit, während das nächst höhere Homologe in der Reihe – also das Monomer **SB2** – die kürzeste Retentionszeit besitzt. Die drei weiteren Ionomere ordnen sich zwischen diesen beiden Molekülen ein.

Etwas klarer wird die Frage nach einem möglichen Trend der Polaritäten erst, wenn man die Retentionsfaktoren der Monomere gegen deren Kettenlängen aufträgt. Dies ist in Abbildung 6.28 dargestellt.

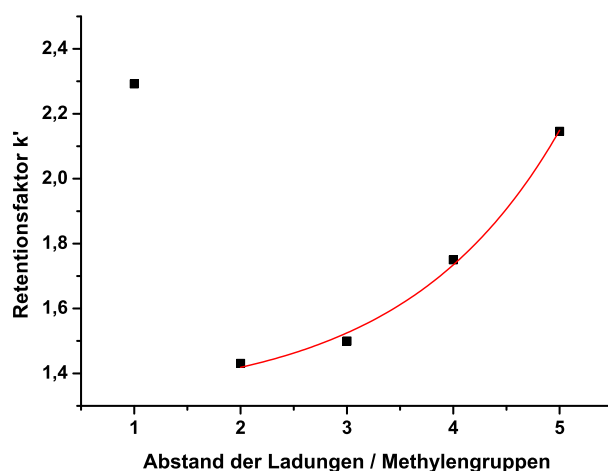


Abbildung 6.28: Auftragung der Retentionsfaktoren der fünf zwitterionischen Monomere gegen deren Abstände zwischen den Ladungen in Methylengruppen.



Auch hier ist ersichtlich, dass die Monomere **SB1** und **SB2** die Extremwerte der untersuchten Moleküle darstellen. Betrachtet man allerdings in dieser Auftragung die Iomere **SB2** bis **SB5** ist auch ein klarer Trend zu erkennen. Die Retentionszeiten der Moleküle nehmen mit steigender Kettenlänge exponentiell zu, die Polaritäten daher exponentiell ab.

Grundsätzlich werden in der RP-HPLC unpolare Analyten stärker retardiert als polare Analyten. Das Sulfobetainmonomer **SB2** ist somit das nach außen polarste Molekül der homologen Reihe. Ein exponentieller Anstieg der Retentionsfaktoren mit sinkender Polarität ist auch das erwartete Verhalten. Ähnliche Beobachtungen wurden bereits von *Theis* an anionischen Monomeren gemacht<sup>[118]</sup>. Dabei wurden Styrolerivate untersucht, die benzyllisch in *para*-Position unterschiedlich substituierte quartäre Amine trugen. Die Reihe ging vom polaren VB-Triethanolamin über VB-Diethanolmethylamin, VB-Dimethylethanolamin bis hin zum unpolaren VB-Trime-thylamin. Die Auftragung der Retentionsfaktoren gegen die Anzahl an Methylsubstituenten ist in Abbildung 6.29 gezeigt. Die chromatographischen Bedingungen entsprechen denen der HPLC-Trennung zwitterionischer Monomere (siehe Abbildung 6.27).

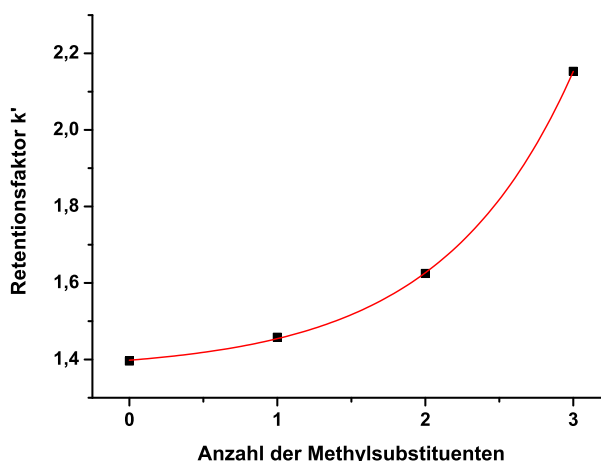


Abbildung 6.29: Auftragung der Retentionsfaktoren anionischer Monomere gegen die Anzahl an Methylgruppen als Substituenten des quartären Amins. Bei den weiteren Substituenten handelt es sich um Ethanolgruppen.

Da Ethanolsubstituenten aufgrund der Alkoholfunktionalität polarer sind als Methylsubstituenten, steigt die Polarität der homologen Reihe mit sinkender Anzahl an Methylsubstituenten. Für die Sulfobetainmonomere sollte prinzipiell ein analoger Trend beobachtet werden. Mit steigender Anzahl an Methylengruppen zwischen den Ladungen sollten die Moleküle unpolarer werden. Aus Sicht der RP-HPLC-Trennung sollten die länger werdenden unpolaren Ketten zwischen den Ladungen immer stärkere Wechselwirkungen mit der stationären C-18-Phase eingehen können. Nun widerspricht jedoch das Sulfobetainmonomer **SB1** diesem erwarteten Trend und liefert die höchste Retentionszeit der untersuchten Monomere; es ist also das unpolarste Monomer. Der Trend setzt erst beim Ionomer **SB2** ein und ist zumindest bis zum Sulfobetain **SB5** gültig.

Betrachtet man die Strukturen der Sulfobetainmonomere, fällt die Erklärung dieses Effektes jedoch nicht schwer. Der einzige Unterschied der fünf Moleküle liegt im Abstand der Ladungen. Zwischen den Ladungen befinden sich mehr oder weniger bewegliche Methylengruppen. Das unpolarste Monomer **SB1** besitzt ein quartäres Amin und eine Sulfonsäure, die lediglich durch eine Methylengruppe voneinander getrennt sind. Diese Methylengruppe sollte aus sterischer Sicht eigentlich nicht in der Lage sein, gut mit der unpolaren stationären Phase der C-18-Trennsäule zu wechselwirken. Dennoch ist die Retention dieses Ionomers am stärksten. Die beiden unterschiedlichen Ladungen scheinen sich bei einem Abstand von einer Methylengruppe folglich gegenseitig, d. h. intramolekular, zu kompensieren. Die Ladungen verhalten sich also wie zwei gegenläufig geladene, gleich starke Magnete, die direkt aneinanderliegen und somit – von außen betrachtet – beinahe ungeladen zu sein scheinen. Das somit nach außen kaum noch geladene Molekül kann sehr gut in Verteilungswechselwirkung mit der stationären Phase treten.

Im Gegensatz dazu zeigt das Sulfobetainmonomer **SB2** die kürzeste Retentionszeit. Zwei Methylengruppen zwischen Amin und Sulfonsäure bringen die beiden Ladungen also so weit auseinander, dass eine direkte Kompensation nicht mehr möglich ist. Auf der anderen Seite ist die C2-Kette derart unflexibel, dass die Methylengruppen zwischen den Ladungen quasi überhaupt nicht mit der stationären Phase wechselwirken können. Lediglich der unpolare Styrolrest erzeugt bei diesem Molekül ein gewisses Maß an Retention. Mit steigender Kettenlänge erhöht sich die Flexibilität der Methylengruppen zwischen den Ladungen, so dass verstärkt Wechselwirkungen zustande kommen.

Im direkten Vergleich der Retentionsfaktoren der zwitterionischen Monomere mit den anionischen Monomeren zeigt sich, dass deren Polaritäten sehr ähnlich sind. In beiden Fällen liegen die  $k'$ -Werte – unter identischen chromatographischen Bedingungen – zwischen 1,4 und 2,3. Dabei muss man allerdings berücksichtigen, dass die HPLC nur Polaritäten bezüglich einer planaren Grenzfläche zu zeigen vermag. Die räumlichen Polaritäten in wässriger Lösung mögen sich von den HPLC-Polaritäten unterscheiden. Da es sich bei der späteren Pfropfpolymerisation jedoch auch um eine Anbindung an eine quasi-planare Grenzfläche handelt, erscheinen die HPLC-Polaritäten für diese Arbeit als aussagekräftiges Kriterium für den Vergleich der unterschiedlichen Monomere. Bezogen auf die Polaritäten sollten demnach im Rahmen der EVO-Synthese keine Unterschiede zwischen anionischen und zwitterionischen Tensiden bestehen.

## 6.3 Herstellung neuer stationärer Phasen für die Zwitterionenchromatographie

Nachdem die zwitterionischen Monomere ausführlich untersucht wurden, können Funktionalisierungsreaktionen durchgeführt werden, um oberflächenfunktionalisierte zwitterionische Austauschermaterialien auf PS/DVB-Basis zu erzeugen.

### 6.3.1 Pfropfpolymerisation der neuen Monomere

Die Herstellung erfolgt in Anlehnung an die unter Punkt 5 gezeigte EVO-Synthese<sup>[117]</sup>. Dabei wird zunächst das PS/DVB in einem Lösungsmittelgemisch aus Aceton/Wasser (1:4) vortemperierte, nach einer definierten Zeit das zwitterionische Monomer zugegeben und nach einer weiteren Vorwärmphase der Radikalstarter in einer Portion als Feststoff beigemischt. Die Reaktionsdauer beträgt grundsätzlich 4 Stunden, die Reaktionstemperatur wird zwischen 338 K und 348 K variiert. Die genauen Reaktionsbedingungen werden im experimentellen Teil unter Punkt 7.4.1.2 dargestellt, eine kurze Übersicht der eingesetzten EVO-Bedingungen im Vergleich zu den – für anionische Monomere optimierten – Standard-EVO-Bedingungen ist in Tabelle 6.7 gegeben. Bei dem eingesetzten PS/DVB handelt es sich um hochporöse, hochquervernetzte Grundkörper mit einem Quervernetzeranteil von 55% und einem mittleren Partikeldurchmesser von 4,6  $\mu\text{m}$ .

Tabelle 6.7: Bedingungen in der EVO-Synthese zwitterionischer Phasen im Vergleich zu den EVO-Standardbedingungen für anionische Monomere.

Eigenschaft	EVO-Standard	EVO-Zwitterionen
Lösungsmittel	Wasser/Ethanol (4:1)	Wasser/Aceton (4:1)
Polymereinwaage	3,0 g (4 mm-Trennsäulen)	3,0 g (4 mm-Trennsäulen) 1,0 g (2 mm-Trennsäulen)
Ionomermenge	2,47 mmol ( $\hat{=}$ 0,83 mmol bei 2 mm-Trennsäulen)	0,42 mmol bis 10,92 mmol
Radikalstartermenge	1,1 eq	1,1 eq
Temperatur	343 K	333 K oder 343 K
Reaktionszeit	4 h	4 h
Radikalstarter	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>

Zu Beginn der Arbeit werden – aufgrund der anfänglich geringen Mengen synthetisierter zwitterionischer Monomere – zunächst Trennsäulen der Dimension 2 mm  $\times$  100 mm gepackt. Um jeweils zwei identische Trennsäulen einer Austauschermaterialcharge packen zu können, wird

je 1 g PS/DVB funktionalisiert. Das funktionalisierte Material wird in Reinstwasser suspendiert und mit Reinstwasser als Packflüssigkeit bei einem Druck von 500 bar nach der Down-Fill-Technik<sup>[53]</sup> gepackt.

Im weiteren Verlauf konnten problemlos größere Monomermengen hergestellt werden und daher auch Trennsäulen der Dimension 4 mm × 100 mm gepackt werden. Die Trennsäulen mit größerem Innendurchmesser bieten im Vergleich zu den 2 mm-Trennsäulen meist bessere Bodenzahlen und Peaksymmetrien. Für die Herstellung zweier 4 mm-Trennsäulen werden 3 g funktionalisiertes Trägermaterial benötigt.

Als organischer Zusatz in der EVO-Synthese wird für die Herstellung zwitterionischer stationärer Phasen meist Aceton verwendet, obwohl die Standard-EVO-Bedingungen Ethanol vorsehen. Der Umstieg von Ethanol auf Aceton wurde durchgeführt, da die Löslichkeit der zwitterionischen Monomere in Aceton deutlich besser ist als in Ethanol.

### 6.3.2 Liste der hergestellten stationären Phasen

Auf diese Weise werden diverse Trennsäulen in den beiden Dimensionen hergestellt. Die stationären Phasen unterscheiden sich neben den Kettenlängen der Ionomere in den Ionomermengen, die pro Gramm Trägermaterial in der EVO-Synthese eingesetzt wurden. Zudem bestehen Unterschiede in der Reaktionstemperatur der EVO-Synthese, die ebenfalls einen Einfluss auf die Belegung der stationären Phasen mit funktionellen Gruppen hat. Bezüglich der Nomenklatur der hergestellten Trennsäulen wird durchgängig ein einheitliches System verwendet. Die Trennsäulen zeigen grundsätzlich die folgende Form der Benennung:

#### SBX-Y-Z

Das Buchstabenpräfix **SB** steht dabei für die Art der funktionellen Gruppe, **SB** also für Sulfobetain. Die im Rahmen dieser Arbeit noch nicht hergestellten inversen stationären Phasen würden demnach als Präfix **SBi** für inverses Sulfobetain tragen, Carboxybetainausauscher müssten mit **CB** beginnen. Nach dem Präfix folgt die Zahl **X**. Diese bezeichnet – in Analogie zur Nomenklatur der zwitterionischen Monomere – die Kettenlänge der funktionellen Gruppe. Wird das Sulfobetainmonomer **SB1** für die Funktionalisierung des Trägermaterials eingesetzt, trägt die Trennsäule das Kürzel **SB1-Y-Z**. Bei den beiden nachfolgenden Zahlen **Y** und **Z** handelt es sich um laufende Nummern. **Y** steht für den jeweiligen EVO-Ansatz. Die Ansätze werden für jedes zwitterionische Monomer bei eins beginnend fortlaufend durchnummeriert. Die Zahl **Y** lässt also keinen Aufschluss über die Reaktionstemperatur oder die eingesetzte Menge an Ionomer zu. Die abschließende Zahl **Z** deklariert die Nummer der Trennsäule, die aus dem Austauschermaterial einer EVO-Charge hergestellt wird. Im Regelfall ist **Z** entweder eins oder zwei.

In der nachfolgenden Tabelle 6.8 sind – sortiert nach Säulendimension und Ionomer – alle hergestellten zwitterionischen stationären Phasen aufgelistet. Neben den eingesetzten Ionormengen sowie den Reaktionstemperaturen sind auch Besonderheiten im Rahmen der EVO-Synthese aufgelistet. So wurde z. B. das Material **SB2-1** mit einem Lösungsmittelgemisch aus Ethanol/Wasser (1:4) – also dem Standard-EVO-Gemisch – hergestellt. Die aus den stationären Phasen gepackten Trennsäulen sind nicht einzeln aufgelistet.

Tabelle 6.8: Hergestellte zwitterionische Austauschermaterialien und deren Syntheseparameter. Neben den Austauscherbezeichnungen und den verwendeten zwitterionischen Monomeren sind Besonderheiten in den Reaktionsbedingungen fett gedruckt.

Austauscher	Ionomer	Ionormenge	EVO-Bedingungen
2 mm-Trennsäulen, 1 g-Ansätze			
<b>SB1-1</b>	<b>SB1</b>	1,66 mmol	343 K, Aceton
<b>SB1-2</b>	<b>SB1</b>	2,50 mmol	343 K, Aceton
<b>SB1-3</b>	<b>SB1</b>	1,31 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB1-4</b>	<b>SB1</b>	0,93 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB2-1</b>	<b>SB2</b>	0,83 mmol	343 K, <b>EtOH</b>
<b>SB2-2</b>	<b>SB2</b>	0,83 mmol	343 K, Aceton
<b>SB2-3</b>	<b>SB2</b>	3,32 mmol	343 K, Aceton
<b>SB2-4</b>	<b>SB2</b>	4,98 mmol	343 K, Aceton
<b>SB2-5</b>	<b>SB2</b>	1,66 mmol	343 K, Aceton
<b>SB2-6</b>	<b>SB2</b>	3,32 mmol	343 K, Aceton, <b>NaOH</b>
<b>SB2-10</b>	<b>SB2</b>	2,47 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB3-1</b>	<b>SB3</b>	3,32 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-2</b>	<b>SB3</b>	0,83 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-3</b>	<b>SB3</b>	1,66 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-4</b>	<b>SB3</b>	5,46 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-12</b>	<b>SB3</b>	0,42 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-13</b>	<b>SB3</b>	2,49 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-14</b>	<b>SB3</b>	0,83 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-20</b>	<b>SB3</b>	3,32 mmol	343 K, Aceton,
<b>KPS in Portionen</b>			
<b>SB3-21</b>	<b>SB3</b>	0,83 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB3-22</b>	<b>SB3</b>	1,66 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB3-23</b>	<b>SB3</b>	3,32 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB3-24</b>	<b>SB3</b>	5,46 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB4-1</b>	<b>SB4</b>	2,50 mmol	343 K, Aceton

Austauscher	Ionomer	Ionomermenge	EVO-Bedingungen
<b>SB4-2</b>	<b>SB4</b>	0,83 mmol	343 K, Aceton
<b>SB4-3</b>	<b>SB4</b>	3,32 mmol	343 K, Aceton
<b>SB4-4</b>	<b>SB4</b>	0,83 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB4-5</b>	<b>SB4</b>	1,68 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB5-1</b>	<b>SB5</b>	0,42 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB5-3</b>	<b>SB5</b>	0,83 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
4 mm-Trennsäulen, 3 g-Ansätze			
<b>SB1-5</b>	<b>SB1</b>	2,79 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB2-11</b>	<b>SB2</b>	7,41 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB3-5</b>	<b>SB3</b>	2,49 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-15</b>	<b>SB3</b>	1,26 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-16</b>	<b>SB3</b>	2,49 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-17</b>	<b>SB3</b>	1,26 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-18</b>	<b>SB3</b>	1,26 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-19</b>	<b>SB3</b>	2,49 mmol	343 K, Aceton
<b>SB3-25</b>	<b>SB3</b>	10,92 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB3-26</b>	<b>SB3</b>	10,92 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB4-6</b>	<b>SB4</b>	5,34 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB4-7</b>	<b>SB4</b>	5,34 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB4-8</b>	<b>SB4</b>	5,34 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB5-2</b>	<b>SB5</b>	3,86 mmol	<b>333 K</b> , Aceton
<b>SB5-4</b>	<b>SB5</b>	5,79 mmol	<b>333 K</b> , Aceton

Bei dieser Auflistung sind alle hergestellten zwitterionischen stationären Phasen zusammengestellt. Größtenteils werden aus diesen Materialien zwitterionische Trennsäulen gepackt. Einige zwitterionische Grundmaterialien werden jedoch auch für die Herstellung von Latex-Anionenaustauschern eingesetzt.

Bei der Auflistung mit laufenden Nummern in Tabelle 6.8 ist anzumerken, dass die Materialien **SB2-7** bis **SB2-9** sowie **SB3-6** bis **SB3-11** nicht vorhanden sind. Der Grund hierfür ist die Erzeugung agglomerierter Anionenaustauscher. So wird z. B. das Material **SB3-5** (3 g-Ansatz) in sechs gleich große Portionen aufgeteilt, die anschließend mit unterschiedlichen Mengen an aminierte Latex-Partikeln versetzt werden. Die daraus resultierenden Austauscher werden von **SB3-6** bis **SB3-11** durchnummeriert, obwohl es sich streng genommen nicht um unterschiedliche EVO-Ansätze handelt. Ähnlich verhält es sich mit den stationären Phasen **SB2-7** bis **SB2-9**.

## 6.4 Herstellung neuer Latex-Austauscher für die Anionenchromatographie

Grundsätzlich können agglomerierte Anionenaustauscher erzeugt werden, indem zwitterionische Grundmaterialien mit definierten Mengen an Latex-Emulsionen versetzt werden. Bei den verwendeten Latex-Emulsionen handelt es sich für erste Vorversuche um Restbestände der von *Raskop*<sup>[37]</sup> hergestellten Latices. Diese wurden vor November 2005 synthetisiert und bis zu ihrer Verwendung bei maximal 300 K in Glasgefäßen gelagert. Die Eigenschaften der verwendeten Latices sind in Tabelle 6.9 zusammengefasst.

Tabelle 6.9: Eigenschaften der von *Raskop* hergestellten Latex-Partikel<sup>[37]</sup>.

Latex	VBC-Anteil	DVB-Anteil	Quervernetzungsgrad	Amin
L0004-A-DMEA	2,014 mg	0,358 mg	15,1%	DMEA
L0010-A-DMEA-1	1,493 mg	0,902 mg	37,7%	DMEA

Später wird eine Latex-Emulsion mit der Chargenbezeichnung Al051206Bmh verwendet, die von der Fa. Metrohm AG (Herisau, Schweiz) bereitgestellt wurde. Bei diesen Latex-Partikeln handelt es sich um das Material, welches für die Herstellung der kommerziell erhältlichen Anionentrennsäule Metrosep A Supp 10 verwendet wird. Die Synthese agglomerierter Latex-Anionenaustauscher gelingt, indem Suspensionen der zwitterionischen Grundmaterialien vorgelegt und mit den Latex-Emulsionen versetzt werden.

### 6.4.1 Herstellung und Vorbereitung der zwitterionischen Grundpartikel

Die zwitterionischen Grundpartikel werden nach dem bereits geschilderten Prozess der EVO-Synthese hergestellt. Die für die Herstellung von Latex-Austauschern eingesetzten zwitterionischen stationären Phasen sind samt Herstellungsparametern bereits in Tabelle 6.8 aufgelistet. Im Anschluss an die EVO-Synthese werden die Austauscher jedoch zunächst zwei Waschschritten unterzogen. Nach dem Waschen der Materialien mit einem Liter Reinstwasser pro 3 g Grundpolymer erfolgt ein zweiter Waschschriff mit zwei Litern Natriumcarbonatlösung der Konzentration 20 mmol/l. Im Anschluss daran werden die zwitterionischen Polymere in etwa 20 ml Reinstwasser pro Gramm Grundmaterial suspendiert. Zu diesen Suspensionen werden pro Gramm Grundmaterial 0,5 ml Natriumacetatlösung der Konzentration 500 mmol/l bei einem pH-Wert von 4,75 gegeben.

Die Zugabe der Natriumacetatlösung soll die Ausbildung der von *Hu* postulierten hantelförmigen Ladungswolken<sup>[28]</sup> – und damit die Anbindung der Latex-Partikel an die Sulfonsäuregruppen – fördern. Zu Vergleichszwecken werden die Grundmaterialien **SB3-17** bis **SB3-19** nur in Reinstwasser suspendiert, ohne dass Natriumacetat zugegeben wird. Die auf diese Weise vorbereiteten Suspensionen zwitterionischer Grundpartikel können direkt mit den Latex-Suspensionen behandelt werden.

#### 6.4.2 Belegung der Grundkörper mit Latex-Partikeln

Zur Belegung der zwitterionischen Grundkörper mit Latex-Partikeln werden die vorbereiteten Grundmaterialsuspensionen in Glasgefäßen in ein Ultraschallbad gestellt. Mithilfe einer Eppendorf-Pipette werden 0,5 ml bis 12 ml Latex-Emulsion pro Gramm Grundmaterial in einer Portion zu den im Ultraschallbad befindlichen Suspensionen gegeben.

Die Zugabe erfolgt im Ultraschallbad, um eine möglichst schnelle und homogene Durchmischung der Latex-Emulsionen mit den Grundpartikelemulsionen zu gewährleisten. Dies ist für die spätere Effizienz der Trennsäulen entscheidend, da die Anbindung der Latex-Partikel an die zwitterionischen Grundmaterialien über elektrostatische Wechselwirkungen erfolgt. Ein Latex-Partikel wird über mehrere Ammoniumionen an mehrere Sulfonsäuregruppen der Grundkörper gebunden. Da diese Anbindung sehr stark ist, wird ein einmal angebundener Latex-Partikel seine Position nicht mehr verändern. Die Verteilung bzw. Durchmischung muss also sehr schnell homogen sein, damit auch homogen belegte Austauscherpartikel entstehen.

Nach der Latex-Zugabe werden die Reaktionsgemische für 5 min im Ultraschallbad belassen. Im Anschluss erfolgt die Filtration der Suspensionen über einen Büchner-Trichter mit Schwarzbänderfilter. Überschüssige Latex-Partikel werden durch Waschen der Rückstände mit 200 ml Natriumcarbonatlösung (100 mmol/l) pro Gramm Polymer entfernt. Die Latex-Austauscher werden in 10 ml Eluent (5 mmol/l Natriumcarbonat und 5 mmol/l Natriumhydrogencarbonat) pro Gramm Austauschermaterial suspendiert und bis zum Packen der Trennsäulen gelagert.

Die Packprozedur wird entsprechend der unter Punkt 7.6 beschriebenen Vorschrift nach der Down-Fill-Technik<sup>[53]</sup> durchgeführt. Als Packflüssigkeit wird der später zu verwendende Eluent (5 mmol/l Natriumcarbonat und 5 mmol/l Natriumhydrogencarbonat) eingesetzt.

#### 6.4.3 Liste der hergestellten Latex-Austauscher

Bezüglich der Nomenklatur werden die Latex-Trennsäulen analog den zwitterionischen Trennsäulen eingeordnet. Das unter Punkt 6.3.2 beschriebene Muster wird lediglich um den An-



hang **L** – für Latex – erweitert, um eine deutliche Abgrenzung der agglomerierten Austauscher von den zwitterionischen stationären Phasen zu gewährleisten. Die Trennsäulen tragen somit Buchstaben/Zahlen-Folgen nach folgendem Schema:

### SBX-Y-ZL

Das Präfix **SB** zusammen mit der Zahl **X** beschreibt auch hier das verwendete zwitterionische Grundmaterial, nämlich Sulfobetaine mit **X** Methylengruppen zwischen den Ladungen. Im Gegensatz zu den zwitterionischen stationären Phasen entspricht die Zahl **Y** nicht der laufenden Nummer der EVO-Synthese, sondern sie beschreibt – ebenfalls als laufende Nummer – die Latexbelegung. Zwei Materialien mit unterschiedlichen **Y**-Werten können unter Verwendung von Grundmaterial aus einer EVO-Charge hergestellt worden sein. Die Zahl **Z** steht auch hier für die laufende Nummer der Trennsäule, die aus einer Latexbelegungscharge gepackt wird.

Um die Zusammenhänge zwischen den zwitterionischen Grundmaterialien, den verwendeten Latex-Emulsionen und den daraus hergestellten Latex-Austauschermaterialien zu verdeutlichen, sind in der nachfolgenden Tabelle 6.10 alle hergestellten agglomerierten Anionenaustauschermaterialien samt den jeweils eingesetzten Grundpartikeln und Latex-Emulsionen zusammengefasst.

Tabelle 6.10: Liste aller hergestellten pellikularen Anionenaustauscher mit zwitterionischen Grundmaterialien.

Austauscher	Grundmaterial	Ionomermenge	Latex	Latexmenge
2 mm-Trennsäulen, 1 g-Ansätze				
<b>SB2-7L</b>	<b>SB2-6</b>	3,32 mmol/g Grundm.	L0004-A-DMEA	5,0 ml/g Grundm.
<b>SB2-8L</b>	<b>SB2-5</b>	1,66 mmol/g Grundm.	L0010-A-DMEA-1	5,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-6L</b>	<b>SB3-5</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	0,5 ml/g Grundm.
<b>SB3-7L</b>	<b>SB3-5</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	1,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-8L</b>	<b>SB3-5</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	2,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-9L</b>	<b>SB3-5</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	4,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-10L</b>	<b>SB3-5</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	8,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-11L</b>	<b>SB3-5</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	12,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-12L</b>	<b>SB3-12</b>	0,42 mmol/g Grundm.	A Supp 10	4,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-14L</b>	<b>SB3-14</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	4,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-15L</b>	<b>SB3-15</b>	0,42 mmol/g Grundm.	A Supp 10	4,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-16L</b>	<b>SB3-16</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	3,0 ml/g Grundm.

Austauscher	Grundmaterial	Ionomermenge	Latex	Latexmenge
<b>SB3-17L</b>	<b>SB3-17</b>	0,42 mmol/g Grundm.	A Supp 10	4,0 ml/g Grundm.
4 mm-Trennsäulen, 3 g-Ansätze				
<b>SB3-16L</b>	<b>SB3-16</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	3,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-18L</b>	<b>SB3-18</b>	0,42 mmol/g Grundm.	A Supp 10	5,0 ml/g Grundm.
<b>SB3-19L</b>	<b>SB3-19</b>	0,83 mmol/g Grundm.	A Supp 10	4,0 ml/g Grundm.

Die Anionenaustauschermaterialien **SB3-6L** bis **SB3-11L** stellen eine Messreihe unter Verwendung des identischen Grundmaterials sowie der identischen Latex-Emulsion dar. Über diese Messreihe soll die maximale Beladung der zwitterionischen Grundkörper mit Latex-Partikeln ermittelt werden. Auf die Ergebnisse dieser Untersuchungen und auf die chromatographische Charakterisierung der agglomerierten Austauscher wird ausführlich unter Punkt 6.9 eingegangen.

## 6.5 Kapazitätsbestimmungen der zwitterionischen Austauscher

Nachdem die zwitterionischen Monomere erfolgreich synthetisiert und charakterisiert wurden, konnten mithilfe der EVO-Synthese auch zwitterionische stationäre Phasen hergestellt werden, indem die zwitterionischen Monomere auf PS/DVB-Grundkörper gepfropft wurden. Ziel dieser Arbeit ist – neben der reinen Herstellung der Monomere und der stationären Phasen – der Vergleich der unterschiedlichen Materialien miteinander. Hierbei soll insbesondere der Einfluss der Abstände zwischen Amin und Sulfonsäure untersucht werden.

Solche Untersuchungen sind allerdings nur dann sinnvoll, wenn sichergestellt wird, dass die verglichenen Austauscher sich auch wirklich nur in diesem Abstand der Ladungen unterscheiden. Um Austauscher zu erzeugen, die ansonsten identische Charakteristika aufweisen, wurden bereits im Rahmen der Synthese gewisse Vorkehrungen getroffen.

So wurden alle Materialien mit PS/DVB einer Polymercharge hergestellt, um Einflüsse des Grundmaterials auszuschließen. Zudem wurde für die Anbindung der funktionellen Gruppen immer dieselbe Reaktion unter identischen Reaktionsbedingungen eingesetzt. Auch sämtliche Vorbereitungs-, Wasch- und Spülschritte wurden konstant und unverändert gehalten.

Fraglich ist nun jedoch, ob die unterschiedlichen zwitterionischen Monomere sich im Rahmen der Pffropfpolymerisation auch wirklich gleich verhalten. Aus diesem Grund wurden bereits unter den Punkten 6.2.3 und 6.2.4 Untersuchungen zum Homopolymerisationsverhalten sowie zu

den Polaritäten der zwitterionischen Monomere angestellt. Hierbei hat sich herausgestellt, dass die Monomere z. T. erheblich voneinander abweichende Reaktionsgeschwindigkeiten in der Homopolymerisation aufweisen. Die Polaritäten liegen zwar in einem Bereich, der für anionische Monomere zu guten Anbindungen im Rahmen der Pfropfpolymerisation geführt hat. Dennoch sind die Unterschiede der einzelnen zwitterionischen Monomere untereinander nicht zu vernachlässigen.

Diese unterschiedlichen Eigenschaften der zwitterionischen Monomere können im Rahmen der EVO-Synthesen dazu führen, dass bei gleicher eingesetzter Ionomermenge unterschiedlich viele Moleküle auch tatsächlich an das PS/DVB-Grundmaterial angebunden werden. Der Einsatz gleicher Ionomermengen in der EVO-Synthese muss also nicht zwingend für alle Ionomere zu vergleichbaren Austauschergruppendichten bzw. -zahlen an den Oberflächen der stationären Phasen führen. In der Ionenaustauschchromatographie dient die Austauscherkapazität  $Q$  als Maß für die Anzahl an immobilisierten funktionellen Gruppen auf der Austauscheroberfläche. Genau genommen entspricht die Austauscherkapazität  $Q$  gerade der Konzentration der an der stationären Phase elektrostatisch angebotenen Elutionen  $c(E^{y+})_s$  (für den Fall der Kationenaustauschchromatographie), normiert auf deren Ladung  $y$  (siehe Gleichung 6.17).

$$Q = c(E^{y+})_s \cdot y \quad (6.17)$$

Die Multiplikation mit  $y$  ist notwendig, da z. B. ein zweiwertiges Elution die Ladung zweier funktioneller Gruppen absättigt. Die Konzentration an zweiwertigen Elutionen  $c(E^{2+})_s$  ist demnach nur halb so groß, wie die Anzahl an funktionellen Gruppen auf der Austauscheroberfläche.

### 6.5.1 Dynamische Kapazitätsbestimmungen

Über den Zusammenhang aus Gleichung 6.17 werden sehr häufig die Kapazitäten von Ionenaustauschern über dynamische Verdrängungsmethoden bestimmt<sup>[123]</sup>. Bei dynamischen Methoden zur Kapazitätsbestimmung werden Anionen- oder Kationenaustauscher zunächst mit einer Ionensorte belegt, indem ein Eluent mit relativ hohen Konzentrationen dieser Ionensorte über eine gepackte Trennsäule geleitet wird. Dabei muss sichergestellt werden, dass alle Austauschergruppen die gewünschte Ionensorte als Gegenion tragen. Hierfür sind meist mehrere Säulenvolumina hochkonzentrierter Eluenten notwendig. Im Anschluss an die Belegung folgt eine Verdrängung der belegten Ionensorte durch eine andere.

Um eine Verfälschung der Messergebnisse durch Reste der Belegungslösung zu verhindern, müssen die Trennsäulen zwischen Belegungs- und Verdrängungsschritt mit mehreren Säulenvo-

lumina Reinstwasser gespült werden. Nach dieser Prozedur befinden sich nur noch Ionen der Belegungsorte in der Trennsäule, die auch elektrostatisch an funktionelle Gruppen der stationären Phase angebunden sind. Die Konzentration der Belegungsorte entspricht nach Gleichung 6.17 also genau der Austauscherkapazität  $Q$ , sofern die Ladung der Belegungsorte eins ist.

Es muss also lediglich noch die Konzentration der Belegungsorte ermittelt werden, um die Konzentration bzw. die Anzahl der funktionellen Gruppen der stationären Phase zu erhalten. Aus diesem Grund wird die Belegungsorte mit einer anderen Ionensorte verdrängt. Auch hierbei kann eine hochkonzentrierte Eluentlösung eingesetzt werden, um möglichst schnell und vollständig die Belegungsorte von den Austauschergruppen zu verdrängen. Bei geeigneter Wahl der Ionensorten kann z. B. mittels Titration die Konzentration der Belegungsorte im Eluat – und damit die Konzentration der Austauschergruppen in der Trennsäule – bestimmt werden.

Im Rahmen der Kationenaustauschchromatographie wäre also z. B. eine Beladung der Trennsäule mit  $H^+$  denkbar, gefolgt von einer Verdrängung mit  $K^+$ . Die  $H^+$ -Konzentration des Eluats kann dann über eine einfache pH-Titration bestimmt werden. Bedenkt man zusätzlich, dass in der Ionenaustauschchromatographie häufig Leitfähigkeitsdetektoren eingesetzt werden, kann die Detektion – bei geeigneter Wahl der Elutionenspezies – auch über die Leitfähigkeit des Eluats erfolgen. Bei der Kationenaustauschchromatographie kann also auch das bereits genannte Szenario mit  $H^+$  als Belegungsorte und  $K^+$  für die Verdrängung eingesetzt werden. Nach Umstellen des Eluenten von Reinstwasser im Spülschritt auf eine Kaliumlösung verdrängt zunächst jedes Kaliumion ein  $H^+$ -Ion, d. h. es eluiert  $H^+$  in der Konzentration der eingesetzten Kaliumlösung.

Da die Äquivalentleitfähigkeit des  $H^+$  sehr hoch ist, führt die Elution von  $H^+$  zu einem hohen Detektorsignal. Sobald alle  $H^+$ -Ionen verdrängt wurden, eluiert die reine Kaliumlösung (Durchbruchzeitpunkt). Die Leitfähigkeit dieser Lösung ist deutlich niedriger als die Leitfähigkeit bei  $H^+$ -Elution. Am Abfall der Leitfähigkeit kann somit die Durchbruchzeit ermittelt werden. Da bei dieser Methode der Zeitraum vom Umstellen des Eluenten bis zum Durchbruch ermittelt werden muss, bietet es sich an, eine etwas niedriger konzentrierte Verdrängungslösung einzusetzen. Bei einer zu hohen Konzentration läge die Durchbruchzeit zu nahe bei null.

Die Kapazität kann letztlich über die Elutionenkonzentration  $c(\text{Eluent})$ , die Flussrate  $F$  sowie die Durchbruchzeit  $t_D$  nach Gleichung 6.18 berechnet werden:

$$Q = t_D \cdot F \cdot c(\text{Eluent}) \quad (6.18)$$

Ein besonderer Vorteil dynamischer Methoden der Kapazitätsbestimmung liegt darin, dass an der gepackten Trennsäule die effektiven Kapazitäten bestimmt werden. Es tragen also nur die funktionellen Gruppen des Austauschermaterials zur dynamischen Kapazität bei, die auch für die Analyten bzw. für Ionen im Eluenten erreichbar sind. Speziell bei Austauschern, die ihre funktionellen Gruppen über das gesamte Partikelvolumen verteilt tragen, kann diese dynamische Kapazität deutlich von der Gesamtzahl der funktionellen Gruppen im Partikel abweichen. Aus diesem Grund sollten generell dynamische Methoden zur Kapazitätsbestimmung bevorzugt werden.

Die Herausforderung liegt nun darin, eine dynamische Methode der Kapazitätsbestimmung für zwitterionische stationäre Phasen zu entwickeln. Bislang existieren diesbezüglich keine Vorlagen in der einschlägigen Fachliteratur. Zwitterionische Austauscher bieten in Bezug auf solche Methoden jedoch einen entscheidenden Nachteil. Sie ermöglichen bereits unter Verwendung von Reinstwassereluenten die Elution von Analytionen (siehe Punkt 2.5.1). Für die Entwicklung einer dynamischen Kapazitätsbestimmungsmethode bedeutet dies, dass ein Spülschritt mit Reinstwasser zwischen Belegung und Verdrängung grundsätzlich ausgeschlossen ist. Hierbei würde nämlich zumindest ein Teil der Belegungsorten wieder von der stationären Phase gelöst werden.

Aus diesem Grund wird nach Möglichkeiten gesucht, die Kapazitäten ohne die Notwendigkeit eines Spülschritts zu bestimmen. Eine Voraussetzung hierfür ist, dass die Umschaltung zwischen zwei Eluenten mit unterschiedlichen Elutionenspezies während eines Messlaufs schnell und totvolumenarm erfolgen muss. Die Bestimmung der Durchbruchzeit muss On-line über Leitfähigkeitsmessungen oder UV-Detektion erfolgen. Um dies zu gewährleisten, wird aus zwei Injektionsventilen ein Eluentumschaltmodul hergestellt, welches direkt vor der HPLC-Pumpe installiert wird. Der Aufbau der Apparatur zur Kapazitätsbestimmung ist schematisch in Abbildung 6.30 dargestellt.

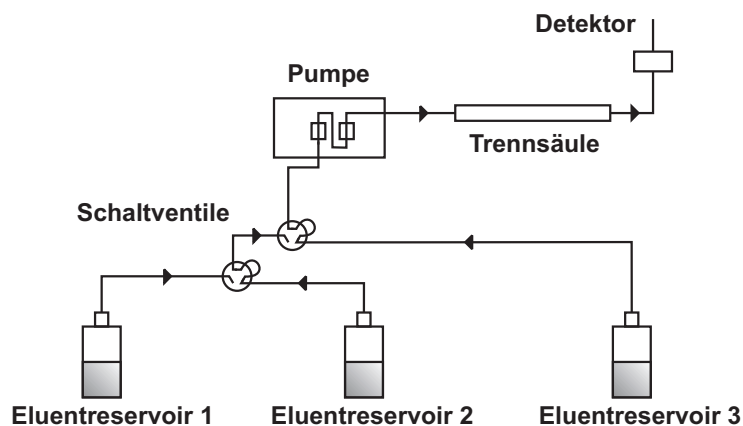


Abbildung 6.30: Schematische Darstellung der verwendeten Schaltventile für den Eluentwechsel zur Kapazitätsbestimmung.

Die Schlauchverbindungen zwischen den beiden Injektionsventilen sowie zwischen dem zweiten Injektionsventil und der Pumpe werden kurz gehalten, um das Totvolumen zu reduzieren und somit auch eine mögliche Durchmischung der unterschiedlichen Eluenten an deren Grenzflächen zu minimieren.

Neben der schnellen Umschaltung zwischen den verschiedenen Eluenten sollten auch die ionischen Spezies bestimmte Voraussetzungen erfüllen, um eine dynamische Methode der Kapazitätsbestimmung zu ermöglichen. Grundsätzlich stehen bei zwitterionischen Austauschermaterialien sowohl die Anionen- als auch die Kationenaustauscherfunktion für Kapazitätsbestimmungen zur Verfügung. Wie bereits unter Punkt 2.5.1 dargestellt, eignen sich Sulfobetain austauscher mit innenliegendem Amin jedoch hauptsächlich für die Trennung von Anionen. Aus diesem Grund sollten auch Eluentanionen für die Kapazitätsbestimmungen eingesetzt werden.

Zudem bietet es sich an, Anionen zu verwenden, die recht stark an die zwitterionischen stationären Phasen anbinden. Aufgrund des Aufbauprinzips zwitterionischer stationärer Phasen kommt es grundsätzlich – auch ohne Zusatz von Elutionen – zur Verdrängung der an die funktionellen Gruppen gebundenen Ionen durch inter- und/oder inramolekulare Absättigungen. Verwendet man stark bindende Eluentanionen, treten diese internen Verdrängungseffekte langsamer ein, sie werden aber in jedem Fall dennoch eine Rolle spielen.

#### **6.5.1.1 Beladung unbelegter Trennsäulen mit Natriumiodid**

Da zwitterionische stationäre Phasen die Möglichkeit der Elution von Ionen mit Reinstwassereluenten bieten, ist zunächst eine Methode zur Kapazitätsbestimmung denkbar, die nicht dem bereits genannten Schema der Beladung und Verdrängung folgt. Aufgrund der inter- und/oder intramolekularen Wechselwirkungen der funktionellen Gruppen der stationären Phasen ist es möglich, Austauscher ohne Eluentgegenionen zu erzeugen.

Um dies zu erreichen, müssen die Materialien nur lange genug mit Reinstwasser gespült werden, bis alle Elutionen von den Austauschergruppen verdrängt sind. Im Anschluss sollte es möglich sein, durch Verwendung einer stark bindenden Ionensorte eine Belegung der Austauschergruppen hervorzurufen. Dabei sollten die an den funktionellen Gruppen ankommenden Ionen des Eluenten mit diesen Wechselwirkungen eingehen und somit nicht direkt eluieren. Zwischen der Systemtotzeit vom Umschaltventil bis zum Detektor und der Zeit, an dem die ersten Elutionen am Detektor angelangen, sollte demnach eine Zeitspanne liegen, die abhängig von der Kapazität des Austauschermaterials ist. Tragen die Grundkörper viele funktionelle Gruppen, können viele Elutionen gebunden werden, es kommt erst spät zum Durchbruch. Bei niedriger kapazitiven Trennsäulen sollte dieser Effekt früher eintreten.

Zur Bestimmung der Kapazitäten zwitterionischer Austauscher über die reine Beladung unbelegter Materialien wird Natriumiodid als ionische Spezies eingesetzt. Die Verwendung von Iodid bietet sich an, da Iodid ein von Sulfobetain austauschern stark retardiertes Anion ist. Die Gefahr einer schnellen Verdrängung durch inter- und/oder intramolekulare Wechselwirkungen wird hierdurch vermindert. Nach einer mindestens 24-stündigen Spülphase mit Reinstwasser sollten die funktionellen Gruppen frei von Elutionen vorliegen. Nun wird der Eluent von Reinstwasser auf einen Natriumiodid-Eluenten der Konzentration 5 mmol/l gewechselt. Eine solche Kapazitätsbestimmung ist beispielhaft an der Trennsäule **SB2-3-1** in Abbildung 6.31 gezeigt.

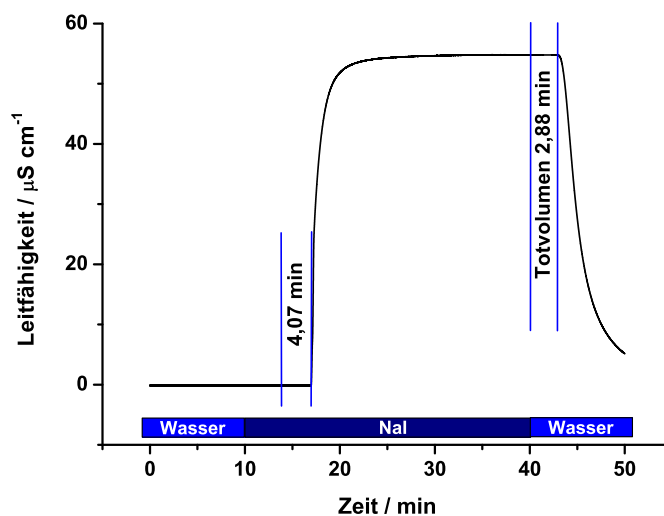


Abbildung 6.31: Kapazitätsbestimmung zwitterionischer Austauscher über die Beladung unbelegter Trennsäulen mit Natriumiodid am Beispiel der Trennsäule **SB2-3-1**. Flussrate: 0,4 ml/min, unsupprimierte Leitfähigkeitsdetektion.

10 min nach Beginn der Messung wird der Eluent von Reinstwasser auf Natriumiodid umgestellt. 6,95 min später kommt es zu einem drastischen Anstieg der Leitfähigkeit. Dieser Punkt markiert demnach den Durchbruchzeitpunkt des NaI. Um aus dieser Zeit die Kapazität bestimmen zu können, muss jedoch zunächst die Systemtotzeit vom Umschaltventil bis zum Detektor ermittelt werden. Aus diesem Grund wird 40 min nach Beginn der Messung wieder von Natriumiodid auf Reinstwasser umgeschaltet. Nach Verstreichen der Systemtotzeit sollte am Detektor eine deutliche Abnahme der Leitfähigkeit zu beobachten sein, da nach dieser Zeit Reinstwasser anstelle des Natriumiodid-Eluenten detektiert wird. Zwar muss davon ausgegangen werden, dass auch zu diesem Zeitpunkt noch NaI am Detektor angelangt, da es auf dem Austauschermaterial zur internen Verdrängung der beladenen Elutionen kommt. Dennoch wird die Elutionenstärke nach Verstreichen der Systemtotzeit deutlich absinken, was nach 42,88 min auch beobachtet wird. Die Totzeit beträgt also 2,88 min. Durch Subtraktion der Systemtotzeit von der Bruttodurchbruchzeit erhält man eine Durchbruchzeit von 4,07 min.

Berechnet man aus dieser Zeit über die Flussrate und die Elutionenkonzentration die Kapazität

$Q$  entsprechend der Gleichung 6.18, erhält man für die abgebildete Trennsäule **SB2-3-1** einen Wert von  $8,2 \mu\text{eq/Säule}$ . Da es sich bei der Trennsäule um eine Säule der Dimension  $2 \times 100 \text{ mm}$  handelt, liegt der Polymerinhalt bei  $250 \text{ mg}$ . Es ergibt sich für das Material **SB2-3** somit eine Kapazität von etwa  $32,8 \mu\text{eq/g Polymer}$ . Dies erscheint jedoch deutlich zu niedrig, da von *Theis* unter vergleichbaren Bedingungen hergestellte Anionenaustauscher Kapazitäten im Bereich von  $100 \mu\text{eq/g}$  bis  $150 \mu\text{eq/g}$  aufweisen<sup>[118]</sup>.

Es wird daher vermutet, dass die Methode der Kapazitätsbestimmung über die Beladung unbelegter Trennsäulen mit Natriumiodid systematisch zu niedrige Werte liefert. Die Erklärung hierfür könnte in der Ausbildung der EDL bzw. der hantelförmigen Ladungswolken liegen. Wie unter Punkt 2.5.1 gezeigt wurde, kommt es im Rahmen der Zwitterionenchromatographie zur Ausbildung dieser Ladungswolken. Solange die Elutionenstärke nicht hoch genug ist, erreichen zwitterionische Austauscher nicht ihre maximale Kapazität. Speziell bei der Versuchsanordnung mit vollständig elutionenfreien Austauschergruppen müssen die Ladungswolken jedoch zunächst ausgebildet werden. Eine plötzlich herannahende Ionenstärkefront ist möglicherweise nicht in der Lage, direkt die volle Ausbildung der EDL zu ermöglichen. Daher kann diese Methode zu geringe Werte für die Kapazitäten liefern.

Aus diesem Grund wird im weiteren Verlauf nach Methoden gesucht, die über das Prinzip Beladung/Verdrängung ablaufen. Bei solchen Methoden müssten die hantelförmigen Ladungswolken bereits durch die Beladung mit der ersten Ionensorte aufgebaut sein. Für die Wahl der ionischen Spezies gelten allerdings wieder die zuvor genannten Voraussetzungen stark bindender Anionen. Speziell der für die Verdrängung eingesetzte Eluent sollte eine stark bindende Anionenspezies besitzen, da diese ansonsten evtl. nicht in der Lage ist, stark bindende Belegungsanionen zu verdrängen.

#### 6.5.1.2 Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid

Zunächst wird untersucht, ob eine Beladung mit Natriumiodid und eine Verdrängung mit Natriumhydroxid zu aussagekräftigen Kapazitätsbestimmungen führt. Es werden dabei Salze mit identischen Kationen eingesetzt, um keine Einflüsse einer möglicherweise vorhandenen Kationenaustauschfähigkeit berücksichtigen zu müssen. Iodid stellt, der chaotropen *Hofmeister-Reihe*<sup>[12][64]</sup> folgend, ein stark bindendes Anion dar. Die Gefahr der internen Verdrängung durch funktionelle Gruppen der stationären Phase sollte demnach gering sein.

Als Anionen für die Verdrängung würden sich – wie bereits beschrieben – ebenfalls stark bindende Anionen, wie z. B. Bromid oder Nitrat, anbieten. Die Problematik bei diesen Anionen liegt jedoch darin, dass sie alle ähnlich hohe Äquivalentleitfähigkeiten aufweisen wie Iodid. Eine Unterscheidung der eluierenden Elutionenspezies wäre demnach nicht möglich. Auch ein



Umstieg auf die UV-Detektion liefert insofern keine Verbesserung, da auch Bromid, Nitrat und Nitrit – also quasi alle stark bindenden Anionen – ebenfalls stark UV-aktiv sind.

Daher wird als Alternative für die Leitfähigkeitsdetektion Hydroxid als Verdrängungsspezies verwendet. Hydroxid besitzt eine deutlich höhere Äquivalentleitfähigkeit als alle anderen Anionen. Beide Eluenten werden in gleichen Konzentrationen von 5 mmol/l eingesetzt. Um sicherzustellen, dass die stationären Phasen ausschließlich mit  $I^-$  belegt sind, werden die Trennsäulen für 18 Stunden mit einer Natriumiodidlösung der Konzentration 5 mmol/l gespült. Im Anschluss daran erfolgt die Umstellung auf Natriumhydroxid. Am Beispiel der Trennsäule **SB2-3-1** ist eine solche Kapazitätsbestimmung in Abbildung 6.32 dargestellt.

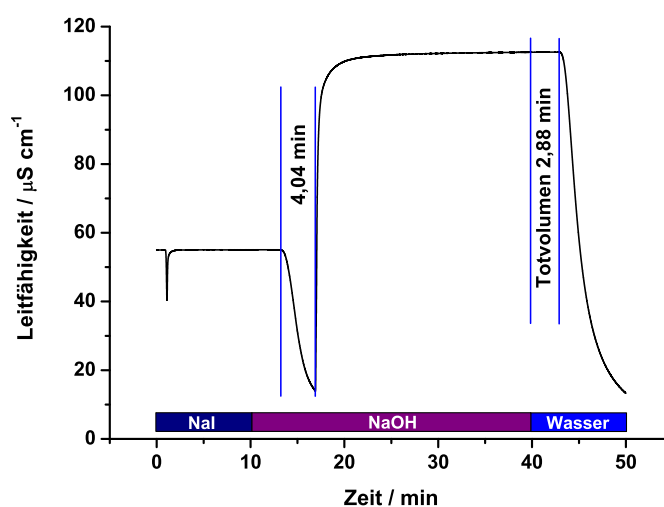


Abbildung 6.32: Kapazitätsbestimmung zwitterionischer Austauscher über die Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid, am Beispiel der Trennsäule **SB2-3-1**. Flussrate: 0,4 ml/min, unsupprimierte Leitfähigkeitsdetektion.

Zunächst wird die Trennsäule – und somit auch der Detektor – von der Natriumiodidlösung der Konzentration 5 mmol/l durchflossen. Die Leitfähigkeit liegt unter diesen Bedingungen bei etwa  $55 \mu S \cdot cm^{-1}$ . Nach 10 min wird das Eluentwechselventil auf Natriumhydroxid umgeschaltet. Nach Verstreichen der Totzeit vom Umschaltventil bis zur Trennsäule sollte das nun an den funktionellen Gruppen ankommende  $OH^-$  die Iodidionen verdrängen. Solange die Iodidionen mit einer Konzentration von 5 mmol/l verdrängt werden, sollte sich die am Detektor gemessene Leitfähigkeit nicht ändern.

Wie aus der Auftragung deutlich zu erkennen ist, kommt es etwa 3 min nach dem Umschalten der Eluenten zu einem Abfall der Leitfähigkeit. Dieser Abfall kann jedoch nur schwer erklärt werden, da grundsätzlich nicht weniger Elutionen die Trennsäule verlassen sollten, als ihr zugeführt werden. Objektiv betrachtet muss dies allerdings bei einer abfallenden Leitfähigkeit nach dem Umschalten der Fall sein. Es handelt sich bei dieser Beobachtung also nicht um den

befürchteten Fall von Iodidionen, die durch interne Verdrängung von der stationären Phase getrennt werden. Wäre dies der Fall, müsste die Leitfähigkeit nämlich zumindest konstant bleiben, da ein eingestelltes Gleichgewicht zunächst beibehalten werden müsste.

Sicher ist jedenfalls, dass die Hydroxidionen – trotz einer erwarteten geringeren Affinität zur stationären Phase gegenüber Iodid – nicht direkt zum Detektor hin durchbrechen. Das Totvolumen des Systems – vom Umschaltventil bis zum Detektor – liegt nämlich bei lediglich 2,88 min. Dieses kann – in Analogie zur Beladung unbelegter Trennsäulen – gut bestimmt werden, indem 40 min nach Messbeginn von NaOH auf Reinstwasser umgestellt wird. Der Punkt, ab dem Reinstwasser am Detektor angelangt, ist deutlich durch einen rapiden Abfall der Leitfähigkeit auszumachen.

Der Leitfähigkeitsabfall nach einer Messzeit von etwa 13 min erfolgt somit auch erst nach Ablauf des Totvolumens. Würden die Hydroxidionen nicht retardiert, wäre an dieser Stelle bereits ein drastischer Anstieg der Leitfähigkeit zu beobachten. Diese setzt jedoch erst etwa 7 min nach dem Umschalten ein. In der Zeit zwischen dem Ende der Totzeit und dieser Durchbruchzeit eluieren weniger als 5 mmol/l Iodid und auch weniger als 5 mmol/l Hydroxid, denn nur so ist der Abfall der Leitfähigkeit zu erklären. Folglich führt nicht jedes retardierte Hydroxidion auch zu einer Verdrängung eines Iodidions. Die Trennsäule scheint für Hydroxidionen noch freie Austauscherplätze bereitstellen zu können, die zuvor nicht von  $I^-$  besetzt waren. Ein solcher Befund ist jedoch für den eigentlichen Untersuchungsgegenstand – die Austauscherkapazität  $Q$  – nicht zuträglich.

So liegt auch hier die Kapazität, die über die Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid ermittelt wird, für die Trennsäule **SB2-3-1** bei lediglich  $8,1 \mu\text{eq/Säule}$  bzw.  $32,4 \mu\text{eq/g}$  Polymer. Die mittels Verdrängung von NaI durch NaOH erhaltenen Kapazitäten unterscheiden sich somit nicht von den zuvor bestimmten Kapazitäten durch Beladung unbelegter Trennsäulen.

Dennoch werden die Untersuchungen an einer Reihe von **SB2**-Austauschern fortgesetzt. Die vier Materialien **SB2-2** bis **SB2-5** wurden in der EVO-Synthese mit unterschiedlichen Mengen an Ionomer pro Gramm PS/DVB umgesetzt. Entsprechend sind auch voneinander abweichende Kapazitäten zu erwarten. In Abbildung 6.33 sind die mittels Verdrängung von NaI durch NaOH bestimmten Kapazitäten in Abhängigkeit von der verwendeten Ionomermenge pro Gramm PS/DVB aufgetragen.

Aus dieser Abbildung wird deutlich, dass die Kapazitäten mit steigender eingesetzter Ionomermenge in der EVO-Synthese grundsätzlich eine steigende Tendenz aufweisen. Die Konzentration des Radikalstarters wird bei den einzelnen Synthesen, mit je 1,1 Äquivalenten bezogen auf die Ionomermenge, vom Verhältnis her konstant belassen. Zwar liefert die Auftragung der

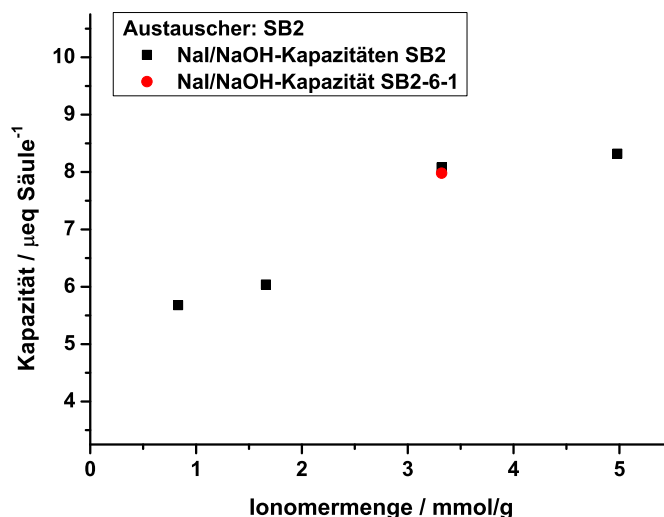


Abbildung 6.33: Mittels Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid bestimmte Kapazitäten von **SB2**-Austauschern. Bei den untersuchten Trennsäulen handelt es sich um die Säulen **SB2-2-1**, **SB2-3-1**, **SB2-4-1**, **SB2-5-1** und **SB2-6-1**, die allesamt die Dimension 2 mm × 100 mm besitzen.

Kapazitäten gegen die Ionomermengen keinen linearen Zusammenhang, dennoch ist über die Variation der Ionomermenge eine Steuerung der Kapazitäten möglich.

Des Weiteren kann gezeigt werden, dass zwei unterschiedliche EVO-Synthesen – in Abbildung 6.33 schwarz und rot dargestellt – bei identischen Ionomermengen, aber verschiedenen pH-Bedingungen quasi identische Kapazitäten liefern. Während das Material **SB2-3** (schwarz) ohne pH-Anpassung im sauren Milieu (KPS liefert ein saures Milieu) synthetisiert wurde, wurden im Rahmen der Herstellung der Trennsäule **SB2-6-1** (rot) drei Äquivalente NaOH zur Reaktionslösung gegeben. Die EVO-Synthesen führen demnach – unabhängig vom pH-Wert der Reaktionslösung – zu reproduzierbaren Austauscherkapazitäten.

Dennoch stehen bei der Kapazitätsbestimmung über die Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid die Problematik der abfallenden Leitfähigkeit sowie die zu geringen absoluten Kapazitäten im Raum. Eine Erklärung hierfür könnte darin liegen, dass die Natriumiodidlösung mit einer Ionenstärke von 5 mmol/l nicht konzentriert genug ist, um die vollständige Ausbildung der EDL bzw. der hantelförmigen Ladungswolke zu gewährleisten.

### 6.5.1.3 Verdrängung von Natriumsulfat durch Natriumiodid

In einer nächsten Variation der Kapazitätsbestimmungen soll somit eine deutlich höher konzentrierte Beladungslösung eingesetzt werden. Für die Verdrängung soll eine stark bindende

Ionensorte zum Einsatz kommen. Da grundsätzlich alle ionischen Verbindungen starke Leitfähigkeiten hervorrufen, ist eine drastische Steigerung der Ionenstärke des Beladungseluenten mit dieser Detektionsmethode nicht möglich. Aus diesem Grund wird auf die UV-Detektion gewechselt.

Wünschenswert wäre auch hierbei die Verwendung zweier stark bindender Anionen für Beladung und Verdrängung. Wie zuvor jedoch geschildert, zeigen beinahe alle stark bindenden Anionen in der chaotropen *Hofmeister-Reihe*<sup>[12][64]</sup> eine hohe UV-Absorption. Aus diesem Grund wird für die Beladung mit einer hochkonzentrierten Lösung Natriumsulfat als ionischer Zusatz verwendet. Sulfat zeigt bei einer Wellenlänge von 205 nm kaum UV-Absorption und kann daher in einer Konzentration von 200 mmol/l eingesetzt werden. Für die Verdrängung wird wiederum ein weniger stark konzentrierter Eluent eingesetzt, da ansonsten die Bestimmung der Durchbruchzeit schwierig wird.

Da zur Erkennung des Durchbruchpunkts ein UV-aktiver Verdrängungseluent benötigt wird, kann eines der stark bindenden Anionen als Natriumsalz eingesetzt werden. In diesem Fall ist dies Natriumiodid mit einer Konzentration von 5 mmol/l. Ebenfalls am Beispiel der Trennsäule **SB2-3-1** ist eine solche Kapazitätsbestimmung in Abbildung 6.34 gezeigt.

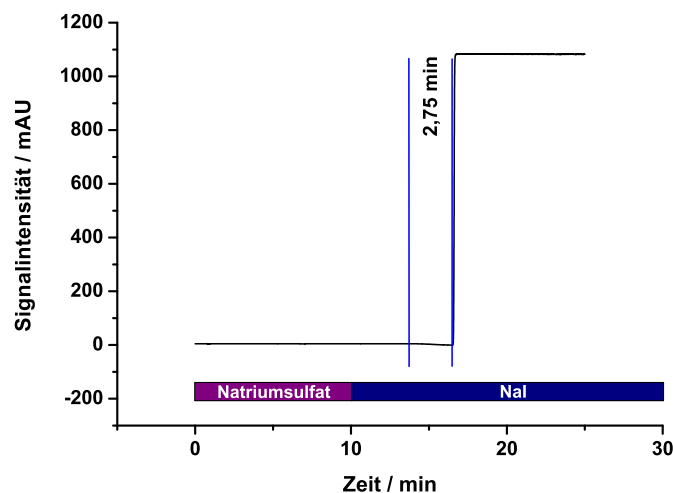


Abbildung 6.34: Kapazitätsbestimmung zwitterionischer Austauscher über die Verdrängung von Natriumsulfat durch Natriumiodid am Beispiel der Trennsäule **SB2-3-1**. Flussrate: 0,3 ml/min, UV-Detektion bei 205 nm.

10 min nach Beginn der Messung wird der Eluent von Natriumsulfat auf Natriumiodid gewechselt. Die Bestimmung der Totzeit erfolgt analog der zuvor gezeigten Methoden, ist jedoch in der Abbildung nicht dargestellt. Nach Abzug der Systemtotzeit verbleibt eine Netto-Durchbruchzeit von 2,75 min. Zwar liegt die Flussrate bei dieser Methode mit 0,3 ml/min niedriger als die Flussraten der anderen Methoden (0,4 ml/min), dennoch ist die Durchbruchzeit

deutlich kürzer als die Durchbruchzeiten der beiden anderen Methoden. Für die Kapazität ergeben sich Werte von  $4,1 \mu\text{eq}/\text{Säule}$  bzw.  $16,4 \mu\text{eq}/\text{g}$  Polymer. Die Kapazitäten, die mittels Verdrängung von Natriumsulfat durch Natriumiodid ermittelt wurden sind in Abbildung 6.35 dargestellt. Zum Vergleich sind in dieser Abbildung auch die bereits zuvor gezeigten NaI/NaOH-Kapazitäten gezeigt.

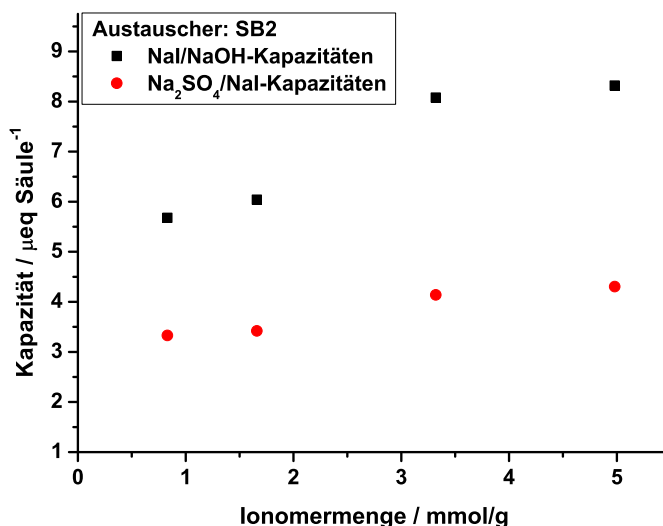


Abbildung 6.35: Mittels Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid (schwarz) sowie mittels Verdrängung von Natriumsulfat durch Natriumiodid (rot) bestimmte Kapazitäten von **SB2**-Austauschern. Bei den untersuchten Trennsäulen handelt es sich um die Säulen **SB2-2-1**, **SB2-3-1**, **SB2-4-1** und **SB2-5-1**, die alle die Dimension  $2 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$  besitzen.

Im direkten Vergleich bestätigt sich zunächst für alle untersuchten stationären Phasen, dass die mittels  $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{NaI}$ -Verdrängung ermittelten Kapazitäten unter den NaI/NaOH-Kapazitäten liegen. Zudem ist allerdings auch eine deutliche Korrelation zwischen den erhaltenen Werten zu erkennen. Zwar liegen die  $\text{Na}_2\text{SO}_4/\text{NaI}$ -Kapazitäten niedriger, die Werte der einzelnen Austauscher untereinander verhalten sich aber ähnlich. Somit sind beide Methoden in der Lage, zumindest übereinstimmende Werte zu liefern, die mit den Kapazitäten der Austauscher zusammenhängen scheinen. Eine Steigerung der Ionomermenge in der EVO-Synthese führt offenbar auch zu einer Erhöhung der Austauschergruppenzahl auf den PS/DVB-Grundkörpern.

Dennoch liegen die Zahlenwerte beider Methoden nicht in dem erwarteten Bereich. Aus diesem Grund wird weiterhin nach besseren Methoden zur Kapazitätsbestimmung gesucht.

#### 6.5.1.4 Annäherung der Kapazitäten über die Anionenretention

Ein weiteres Kriterium, das mit der Kapazität zwitterionischer Austauscher in Verbindung stehen sollte, sind die Retentionszeiten von Analyten. Wenn die Ionenstärke eines verwendeten Eluenten so hoch gewählt wird, dass die EDL bzw. die hantelförmige Ladungsverteilung vollständig ausgebildet ist, sollten die Retentionszeiten von ionischen Analyten nur noch von der Anzahl an zwitterionischen Gruppen auf der Austauscheroberfläche abhängen. Natürlich liefert eine solche Betrachtung keine absoluten Zahlenwerte für Austauscherkapazitäten, sie ermöglicht aber zumindest einen Vergleich der zwitterionischen Austauscher untereinander.

Um dies zu erreichen, werden – aufgrund der Eigenschaften von Sulfobetaineaustauschern – wiederum anorganische Anionen als Analyten eingesetzt. Um auch bei niedrigen Kapazitäten noch Retention beobachten zu können, dienen Nitrat, Iodid und Thiocyanat als Analyten, da diese Anionen nach der chaotrophen *Hofmeister-Reihe*<sup>[12][64]</sup> starke Wechselwirkungen mit den quartären Aminen eingehen. Zudem sind diese Anionen UV-aktiv und können daher bei einer Wellenlänge von 210 nm gut detektiert werden. Als Eluentensalz dient – analog zur vorherigen Methode der Kapazitätsbestimmung – Natriumsulfat mit einer Konzentration von 200 mmol/l. Unter diesen Bedingungen wird ein Großteil der hergestellten Trennsäulen der Dimension 2 mm × 100 mm untersucht. Die Retentionsfaktoren der untersuchten Trennsäulen sind in Abbildung 6.36 zusammengefasst.

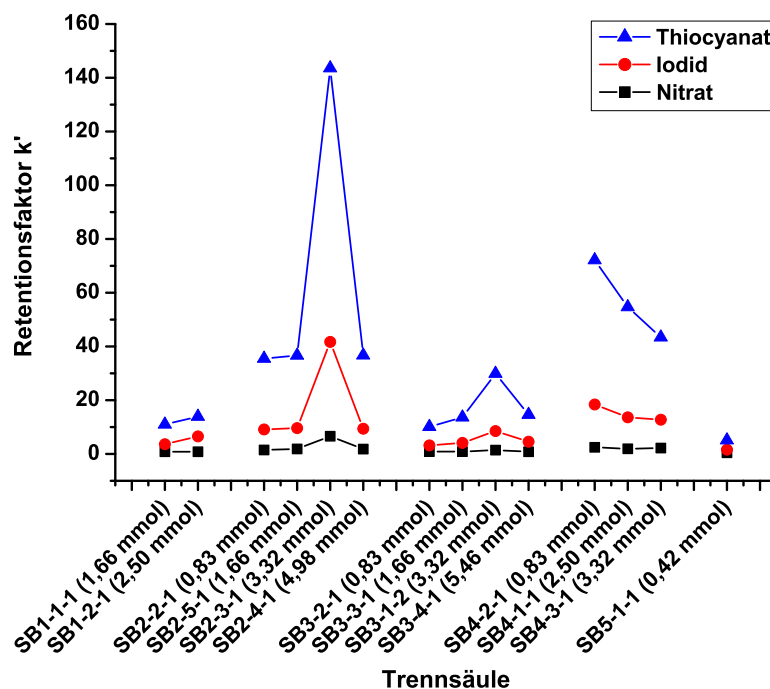


Abbildung 6.36: Retentionsfaktoren für die Trennung von Nitrat, Iodid und Thiocyanat auf Trennsäulen der Dimension 2 mm × 100 mm. Eluent: 200 mmol/l Natriumsulfat, UV-Detektion bei 210 nm, Säulentemperatur: 318 K, Probenschleife: 5 µl.

Die Trennsäulen sind von links nach rechts bezüglich der Abstände zwischen den Ladungen der funktionellen Gruppen sortiert, also **SB1**-Austauscher links und **SB5**-Austauscher rechts. Innerhalb einer Austauschergruppe erfolgt die Sortierung von links nach rechts nach aufsteigender Ionomermenge in der EVO-Synthese.

Die Elutionsreihenfolge ist bei allen untersuchten Materialien identisch, Nitrat eluiert als erster Analyt, gefolgt von Iodid und Thiocyanat. Im Vergleich zu den bisher vorgestellten Methoden der Kapazitätsbestimmung ist zunächst die Beurteilung der Retentionsfaktoren der **SB2**-Austauscher interessant. Abbildung 6.35 zeigte deutlich einen kontinuierlichen Anstieg der Austauscherkapazitäten mit steigenden Ionomermengen in der EVO-Synthese. Die Retentionsfaktoren der Anionen steigen hingegen nicht in ähnlicher Weise an. Besonders drastisch fallen die sehr hohen Retentionsfaktoren des Austauschers mit 3,32 mmol Ionomer pro Gramm Polymer in der EVO-Synthese auf. Dieser zeigt für Thiocyanat einen Retentionsfaktor, der mit 143 etwa viermal so groß ist, wie die Retentionsfaktoren bei 1,66 mmol und 5,46 mmol Ionomer in der EVO-Synthese.

Es erscheint sehr unwahrscheinlich, dass die Kapazität dieses Austauschers tatsächlich so viel höher liegt, als die Kapazitäten der Austauscher, die mit ein Wenig mehr bzw. etwas weniger Ionomer in der EVO-Synthese hergestellt wurden. Für diesen Befund muss demnach ein anderer Grund verantwortlich sein. Dies könnte z. B. ein idealer Abstand der zwitterionischen Gruppen beim Austauscher **SB2-3-1** sein, eine experimentelle Bestätigung dieser Vermutung ist jedoch kaum möglich.

Betrachtet man die übrigen zwitterionischen Materialien, fallen auch die deutlichen Unterschiede in Abhängigkeit der Ladungsabstände auf. Während die **SB2**-Austauscher sowie der **SB4**-Austauscher mit 0,83 mmol Ionomer in der EVO-Synthese sehr hohe Retentionsfaktoren für alle untersuchten Anionen aufweisen, zeigen die **SB1**-, **SB3**- und **SB5**-Materialien deutlich geringere Anionentrennleistungen.

Auch das Verhalten der Austauscher einer Sulfobetainsorte untereinander ist nicht immer vergleichbar. So zeigen die **SB1**-, **SB2**- und **SB3**-Materialien zunächst mit steigender Ionomermenge in der EVO-Synthese auch steigende Retentionsfaktoren. Die Austauscher mit dem Ionomer **SB4** als funktionelle Gruppe weisen einen gegenläufigen Trend auf.

Zusammenfassend muss festgestellt werden, dass die Retentionsfaktoren der Anionentrennungen für die unterschiedlichen Austauscher nicht mit den bisherigen Ergebnissen der Kapazitätsbestimmungen korrelieren. Zudem wird ein Vergleich der Kapazitäten von Austauschern mit unterschiedlichen funktionellen Gruppen nicht möglich sein. Wie unter Punkt 6.2.4 gezeigt wurde, sind nämlich z. B. bereits die Polaritäten der zwitterionischen Monomere – und damit die Polaritäten der stationären Phasen – in Abhängigkeit der Abstände zwischen den Ladungen

deutlich unterschiedlich. Faktoren wie dieser werden erhebliche Einflüsse auf die Retentionseigenschaften bezüglich der Trennung anorganischer Anionen haben.

Die Untersuchung der Retentionsfaktoren unter gleichen chromatographischen Bedingungen ist somit nicht geeignet, Rückschlüsse auf die Kapazitäten der Austauscher zu erhalten. Ein wichtiges Ziel dieser Arbeit besteht jedoch darin, Austauscher aller Sulfobetaine mit vergleichbaren Kapazitäten zu erzeugen. Aus diesem Grund müssen weitere Methoden zur Kapazitätsbestimmung untersucht werden, um letztlich eine Methode zu finden, die aussagekräftige und reproduzierbare Kapazitätswerte liefert.

Dynamische Methoden haben sich somit für die Kapazitätsbestimmung als nicht ideal herausgestellt. Zwar liefert die Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid – von den Verhältnissen her – sinnvolle Ergebnisse für die **SB2**-Materialien, die absoluten Kapazitätswerte liegen jedoch nicht in einem realistischen Bereich.

### 6.5.2 Elementspezifische Methoden der Kapazitätsbestimmung

Aus diesem Grund ist es sinnvoll, von dynamischen Methoden der Kapazitätsbestimmung Abstand zu nehmen und elementspezifische Untersuchungen an den Polymerpartikeln durchzuführen. Bei diesen Methoden werden die gesamten Partikel der Analytik unterzogen, d. h. es werden alle in den Partikeln enthaltenen funktionellen Gruppen bestimmt. Es besteht somit die Gefahr, dass z. B. auch Sulfonsäuren mitbestimmt werden, die innerhalb der Partikel oder aber in für Analyten unzugänglichen Microporen lokalisiert sind.

Viele Vorurteile gegen diese Art der Analytik können jedoch bereits im Voraus problemlos ausgeräumt werden. So können funktionelle Gruppen, die bereits vor der EVO-Synthese in den Grundmaterialpartikeln vorhanden gewesen sein könnten, durch einfache Analyse von nicht funktionalisierten Blindproben ermittelt werden. Die Funktionalisierung von Microporen kann aufgrund des Funktionalisierungsverfahrens ebenfalls ausgeschlossen werden. Bei der Funktionalisierung werden große Moleküle über radikalische Additionen an das PS/DVB-Rückgrat angebunden. Da viele Analyten in der ZIC-HILIC, besonders aber in der ZIC, nicht größer als die funktionalisierten Styrolderivate sind, sollten die Analyten auch in alle Poren eindringen können, in denen funktionelle Gruppen über das EVO-Verfahren angebunden wurden. Insofern sollte die Anzahl der im gesamten Polymerpartikel vorhandenen Austauschergruppen mit der Anzahl der für Analyten zugänglichen funktionellen Gruppen übereinstimmen.

Für die elementspezifische Bestimmung der Austauscherkapazitäten bestehen verschiedene Methoden. Je nach Methode kann entweder über die Bestimmung des Schwefels der Sulfonsäuren,



oder die Bestimmung des Stickstoffs der quartären Amine vorgegangen werden. Da im Rahmen der Herstellung der zwitterionischen Monomere sichergestellt werden konnte, dass jedes Molekül sowohl quartäres Amin als auch Sulfonsäure trägt, sollten beide Elemente bei den Kapazitätsbestimmungen der stationären Phasen identische Werte bezüglich der molaren Gehalte liefern.

### 6.5.2.1 Kapazitätsbestimmung mittels Elementaranalyse

Eine elementspezifische Methode, die sowohl die Bestimmung des Stickstoff- als auch des Schwefelgehalts ermöglicht, ist die Elementaranalyse. Elementaranalytische Proben wurden von der Abteilung Routineanalytik des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg durchgeführt.

Die Bestimmung des Stickstoffgehalts erfolgt im Rahmen der CHN-Analytik durch Hochtemperaturverbrennung einer bekannten Probenmenge. Die Verbrennungsgase werden im Anschluss getrennt und der N<sub>2</sub>-Gehalt über einen Wärmeleitfähigkeitsdetektor bestimmt. Die Untersuchung von Blindproben der verwendeten PS/DVB-Charge zeigt keine im Grundmaterial vorhandenen Stickstoffbestandteile. Die später bei den funktionalisierten Austauschermaterialien gefundene Stickstoffgehalte müssen daher von der Funktionalisierung stammen.

Zur Bestimmung des Schwefelgehaltes wird zunächst über einen oxidativen Aufschluss der im Polymer enthaltene Schwefel zu Sulfat oxidiert. Das Sulfat wird anschließend im Rahmen einer Titration mit Bariumperchlorat unter Verwendung einer photometrischen Endpunktserkennung quantitativ nachgewiesen. Auch für diese Analytik werden Blindproben des Grundmaterials untersucht, die ebenfalls einen negativen Befund aufweisen.

In Bezug auf den Schwefelgehalt könnte – neben einer Verunreinigung der Grundpartikel – auch noch die Verwendung von Kaliumperoxodisulfat als Radikalstarter zu einer Verfälschung der Resultate führen. Aus diesem Grund wird auch eine Grundmaterialprobe untersucht, die einer EVO-Synthese ohne Zusatz von Ionomer unterzogen wurde. Nach den üblichen Spülschritten kann allerdings auch in dieser Probe kein Schwefel nachgewiesen werden. Diese Ergebnisse decken sich mit den von *Rieß* durchgeführten elementaranalytischen Untersuchungen<sup>[39]</sup>. Der in den funktionalisierten Polymerproben gefundene Schwefelgehalt kann somit ebenfalls nur von den angebundenen funktionellen Gruppen herrühren.

Letztlich ist jedoch auch noch denkbar, dass ein gemessener Schwefel- oder Stickstoffgehalt von hydrophob an das Trägermaterial angebundenen Homopolymerketten herrührt. Eine solche Belegung des PS/DVB mit Homopolymerketten konnte von *Theis* beobachtet werden<sup>[118]</sup>. Es konnte aber ebenso gezeigt werden, dass eine Ablösung der Homopolymerketten durch Spülen

der stationären Phase mit Aceton oder Acetonitril erreicht werden kann. Daher werden grundsätzlich alle stationären Phasen vor der Analytik sowie vor dem Packen von Trennsäulen über einen Büchnertrichter mit Schwarzbandfilter mit 500 ml Acetonitril pro drei Gramm Polymer gewaschen.

Dadurch wird sichergestellt, dass nur noch funktionelle Gruppen am Trägermaterial verbleiben, die auch kovalent angebunden sind. Die Elementaranalytik liefert somit den effektiven Gehalt kovalent an das Trägermaterial gebundener funktioneller Gruppen. In Abbildung 6.37 sind die Auftragungen der Schwefel- (links) sowie der Stickstoffgehalte (rechts) gegen die in der EVO-Synthese eingesetzten Ionomermengen für alle fünf zwitterionischen Materialien dargestellt.

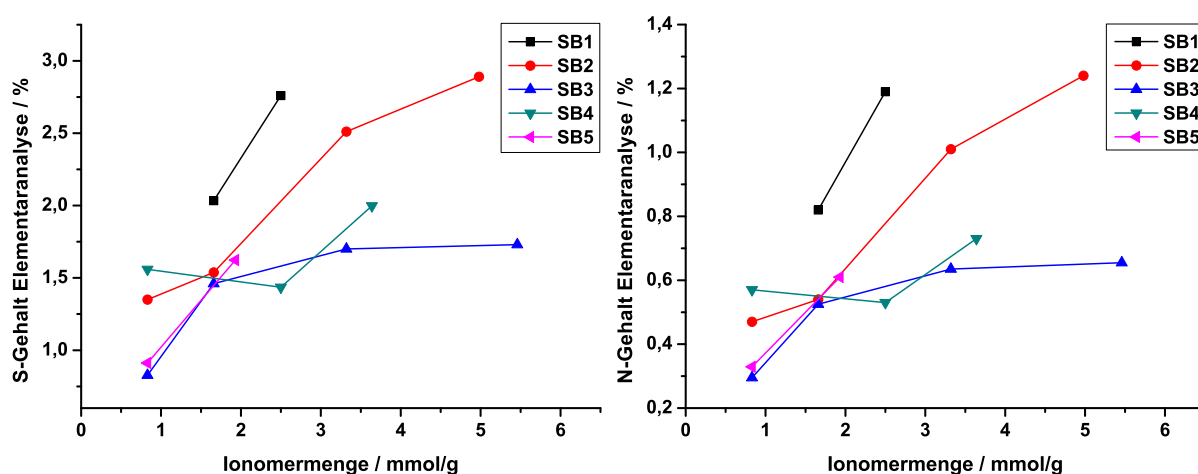


Abbildung 6.37: Gegenüberstellung der mittels Elementaranalytik bestimmten Schwefel- (links) und Stickstoffgehalte (rechts) zwitterionischer Austauschermaterialien.

Entscheidend ist hierbei, dass jeweils die gleichen Polymerchargen untersucht wurden. Die beiden Auftragungen zeigen somit den Schwefel- und den Stickstoffgehalt der gleichen Proben. Zuvor wurde postuliert, dass die Anzahl der quartären Amine auf den Austauschermaterialien – aufgrund der Funktionalisierung mit zwitterionischen Monomeren – gerade der Anzahl an Sulfonsäuregruppen entsprechen müsste. Die elementaranalytischen Untersuchungen bestätigen diese Vermutung. Rein qualitativ betrachtet, weisen die Auftragungen der Schwefel- und Stickstoffgehalte gegen die eingesetzten Ionomermengen vergleichbare Kurvenverläufe auf. Bis auf leichte Abweichungen scheinen Stickstoff- und Schwefelgehalt der Proben also zu korrelieren.

Noch deutlicher wird diese Korrelation, wenn man die Schwefelgehalte der elementaranalytischen Untersuchungen gegen die Stickstoffgehalte aufträgt. Für den Fall einer Abhängigkeit der erhaltenen Werte voneinander, müssten alle Messpunkte auf einer Ursprungsgeraden liegen. Dies ist in Abbildung 6.38 gezeigt.

Im Rahmen der Messungenauigkeit der elementaranalytischen Bestimmungen kann von einem

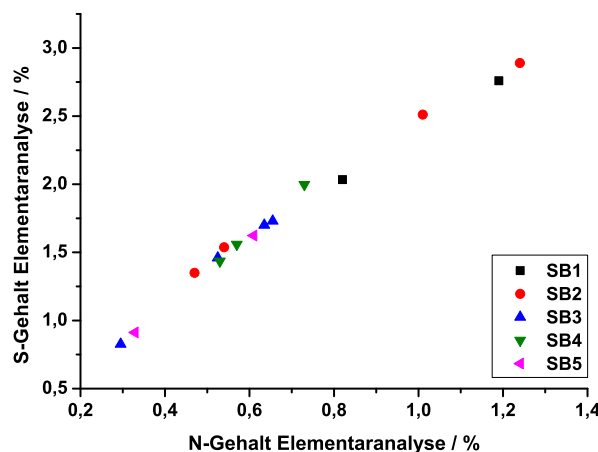


Abbildung 6.38: Korrelation der mittels Elementaranalyse bestimmten Schwefel- und Stickstoffgehalte.

linearen Zusammenhang zwischen Schwefel- und Stickstoffgehalt aller zwitterionischen stationären Phasen ausgegangen werden. Eine Korrelation kann somit durch diese Auftragung zweifelsfrei bestätigt werden. Zudem liegen die Massengehalte an Schwefel etwa beim 2,2-fachen der Massengehalte an Stickstoff. Beide Elemente liegen also in äquimolaren Mengen vor. Hierdurch ist sichergestellt, dass die radikalische Additionsreaktion für alle untersuchten Ionomere tatsächlich zur Anbindung zwitterionischer Gruppen an die PS/DVB-Grundmaterialien führt.

Betrachtet man nun noch einmal genauer die Kurvenverläufe für die Sulfobetain austauscher aus Abbildung 6.37 mit den zuvor über dynamische Verfahren bestimmten Kurven (siehe Abbildung 6.35) scheint auch hier eine Korrelation zu bestehen. Auch bezogen auf diesen Vergleich ist die Auftragung der zusammengehörigen Rohdaten aus der dynamischen Kapazitätsbestimmung gegen die elementaranalytische Kapazitätsbestimmung interessant. In Abbildung 6.39 sind daher die Schwefelgehalte der **SB2**-Austauscher gegen die mittels NaI/NaOH-Verdrängung ermittelten Kapazitäten aufgetragen.

Auch diese Auftragung zeigt deutlich einen linearen Zusammenhang. Die mittels dynamischer Methoden bestimmten Kapazitäten spiegeln somit – trotz der zuvor geäußerten Bedenken – die Anzahl der an die PS/DVB-Grundmaterialien gebundenen funktionellen Gruppen wieder. Neben der Tatsache, dass die dynamischen Methoden somit prinzipiell anwendbar wären, kann aus diesem Zusammenhang ein noch entscheidenderer Schluss gezogen werden: Die elementaranalytische Untersuchung – eine elementspezifische Methode, welche die Elementgehalte der gesamten Partikel erfasst – liefert vergleichbare Ergebnisse mit einer dynamischen Methode, für die nur an der Polymeroberfläche befindliche funktionelle Gruppen zugänglich sind. Auch die elementspezifischen Methoden korrelieren somit mit den effektiv für Analyten erreichbaren funktionellen Gruppen.

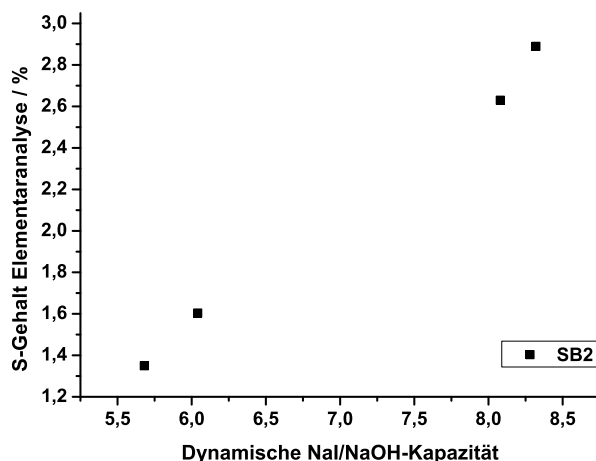


Abbildung 6.39: Zusammenhang zwischen dynamisch bestimmten Kapazitäten (NaI/NaOH-Verdrängung) und Schwefelgehalten der **SB2**-Austauscher.

Die Unterschiede in den Ergebnissen der beiden Methoden liegen also letztlich ausschließlich in den Absolutwerten der Kapazitäten. Während die dynamische Methode für das höchstkapazitive **SB2**-Material einen Wert von  $32,8 \mu\text{eq/g}$  liefert, ergibt die Kapazitätsberechnung aus der elementaranalytischen Untersuchung  $885 \mu\text{eq/g}$ , berechnet über den Stickstoffgehalt. Dieser Wert liegt wiederum – verglichen mit den von Theis<sup>[118]</sup> erhaltenen Kapazitäten – deutlich zu hoch. Die Frage nach den tatsächlichen Kapazitäten kann jedoch letztlich auch dahingestellt bleiben, da für die Untersuchungen im Rahmen dieser Arbeit nur das Verhältnis der Kapazitäten der unterschiedlichen Austauscher zueinander von Bedeutung ist.

Um dieses Verhältnis beurteilen zu können, ist wiederum ein Rückblick auf Abbildung 6.37 notwendig. Für die stationären Phasen des **SB2**-Materials bestätigt sich der zuvor beobachtete Anstieg der Kapazitäten mit steigender Ionomermenge in der EVO-Synthese. Zwar ist der Zusammenhang nicht ideal linear, über die Variation der Ionomermenge sollte die Kapazität in den gezeigten Grenzen jedoch problemlos gesteuert werden können. Von den stationären Phasen des **SB1**-Materials sind lediglich zwei Proben untersucht worden, doch auch hier ist deutlich der Anstieg der Kapazitäten mit steigenden Ionomermengen zu erkennen. Wie später noch gezeigt wird, setzt sich dieser Trend hin zu niedrigeren Ionomermengen auch in Form niedrigerer Kapazitäten fort.

Das Sulfobetain mit drei Methylengruppen zwischen den Ladungen zeigt ab einer Ionomermenge von  $1,66 \text{ mmol/g}$  kein lineares Verhalten mehr, sondern eine Annäherung an einen Grenzwert. Die maximal erreichbare Kapazität liegt bei etwa  $450 \mu\text{eq/g}$ . Ähnliche Kapazitätsbereiche sind mit dem Material **SB4** möglich, dieses Sulfobetainmonomer zeigt jedoch einen unstetigen Zusammenhang zwischen Ionomermenge und Austauscherkapazität. Unterschiedliche Ionomermengen bewirken bei diesem Material lediglich eine Variation zwischen  $380 \mu\text{eq/g}$  und  $520 \mu\text{eq/g}$ . Obwohl der Grund für dieses Verhalten unklar ist, kann festgestellt werden, dass

auch mit diesem Material problemlos Austauscher im Kapazitätsbereich von  $450 \mu\text{eq/g}$  erzeugt werden können.

Bezüglich des Sulfobetains mit fünf Methylengruppen zwischen den Ladungen konnten – aufgrund der schwierigeren Synthese und der damit verbundenen geringeren Verfügbarkeit an Monomer – ebenfalls nur zwei stationäre Phasen untersucht werden. Für dieses Material wird wieder ein direkt proportionaler Zusammenhang zwischen Ionomermenge und Austauscherkapazität beobachtet.

Trotz der positiven Ergebnisse der elementaranalytischen Untersuchungen bringt diese Art der Kapazitätsbestimmung auch Probleme mit sich. So ist es grundsätzlich problematisch, auf Auftragsanalysen angewiesen zu sein. Obwohl die Routineanalytik des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg direkt in den universitären Alltag eingebunden ist, müssen die zu untersuchenden Proben zunächst abgegeben werden, um im Anschluss untersucht werden zu können. Speziell die Ausfallhäufigkeit der für die Analysen verwendeten Geräte macht jedoch eine zeitnahe Messung der Proben teilweise unmöglich.

Um von solchen Auftragsanalysen unabhängig zu sein, wird daher nach Alternativmethoden gesucht, die in Eigenregie durchgeführt werden können.

#### 6.5.2.2 Kapazitätsbestimmung mittels ICP-AES

Zur elementspezifischen quantitativen Bestimmung von Schwefel kann neben der Elementaranalytik z. B. die ICP-AES eingesetzt werden. Diese Methode eignet sich grundsätzlich gut für elementspezifische Untersuchungen an flüssigen Proben bzw. wässrigen Lösungen. Über eine Zerstäuberkeramik werden diese Lösungen einem Argongasstrom – und damit dem induktiv gekoppelten Plasma – zugeführt. Im Plasma kommt es zur Trocknung, Verdampfung, Atomisierung und Anregung der Probenbestandteile. Die Lichtemission der angeregten Analytatomsorten – die von der Wellenlänge her spezifisch für die Atomsorte ist – kann letztlich detektiert werden und liefert ein Signal, das proportional zur Analytkonzentration ist.

Nun handelt es sich bei den zu untersuchenden stationären Phasen jedoch nicht um Flüssigkeiten und auch nicht um Substanzen, die in wässrige Lösung gebracht werden können. Ein Lösen der Polymerpartikel ist – aufgrund des hohen Quervernetzungsgrades – generell selbst in organischen Lösungsmitteln nicht möglich. Um eine ICP-AES-Analytik zu ermöglichen, müssen die Polymere daher zumindest in eine Form gebracht werden, in der sie zerstäubt werden können. In wässriger Lösung sind hierzu Suspensionen denkbar. Die Partikel der stationären Phasen müssen also fein verteilt in wässriger Lösung vorliegen, wobei für die Analytik eine homogene Verteilung von großer Bedeutung ist.

Aufgrund der Funktionalisierung mit zwitterionischen Gruppen können die Polymerpartikel prinzipiell gut in Wasser suspendiert werden. Hierbei wird jedoch nach kurzer Zeit (wenige Stunden) eine Sedimentation der Partikel beobachtet. Aus diesem Grund müssen besondere Vorkehrungen getroffen werden, um zumindest über den Messprozess hinweg eine homogene Suspension zu gewährleisten. Zum einen werden deshalb niedrig konzentrierte Polymersuspensionen hergestellt, indem je zehn Milligramm der getrockneten Polymere in zehn Gramm Reinstwasser suspendiert werden. Durch die niedrige Polymerkonzentration soll die Bildung von Agglomeraten verhindert werden. Einzeln suspendierte Partikel sollten ein geringeres Bestreben zur Sedimentation aufweisen, als größere Agglomerate. Des Weiteren wird der Suspension ein lösungsvermittelndes Tensid zugesetzt. Hierzu wird Triton X-100 verwendet, welches eine noch bessere Suspension der hydrophoben Grundkörper in wässrigem Milieu bewirken soll.

Als letzte Maßnahme zur Sicherstellung homogener Suspensionen werden die Proben während des gesamten Messprozesses mithilfe eines Magnetrührers mit Magnetrührstäbchen durchmischt. Die Einbringung ins Plasma erfolgt über eine peristaltische Pumpe und einen *Meinhard*-Zerstäuber. Als Referenzproben zur Kalibrierung werden wässrige Sulfatlösungen eingesetzt. Dies muss für die spätere Kapazitätsberechnung berücksichtigt werden, da evtl. der Prozentsatz an Sulfat, der aus der Sulfatlösung ins Plasma gelangt, größer ist als der Prozentsatz an Polymerpartikeln, der durch den Zerstäuber bis zum Plasma vordringt. Es ist daher möglich, dass die Ergebnisse systematisch zu niedrig liegen. Einer Vergleichbarkeit der erhaltenen Werte untereinander steht dieser Umstand jedoch nicht entgegen. Die mittels ICP-AES-Analytik erhaltenen Ergebnisse sind in Abbildung 6.40 dargestellt.

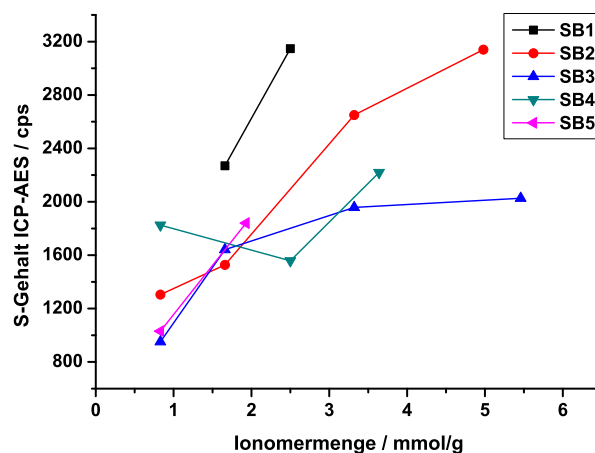


Abbildung 6.40: Mittels ICP-AES-Analytik bestimmte Schwefelgehalte der unterschiedlichen zwitterionischen Austauschermaterialien. Aufgetragen sind die Rohdaten in counts per second (cps).

Auch bei dieser Auftragung wird im Vergleich zu den Abbildungen 6.35 und 6.37 deutlich, dass das qualitative Aussehen der Graphen sehr ähnlich ist. Genau wie bei der Auftragung im Rah-

men der Elementaranalytik sind auch hier die Rohwerte der Methode angegeben, also die counts per second, die das ICP-AES liefert. Auf die Angabe bzw. Umrechnung in Kapazitätswerte wird bewusst verzichtet. Der Grund hierfür liegt in den starken Abweichungen zwischen diesen Werten bei den verschiedenen Methoden. Während die Elementaranalytik für den höchstkapazitiven **SB2**-Austauscher eine Kapazität von  $885 \mu\text{eq/g}$  lieferte, liegt der via ICP-AES-Analytik ermittelte Wert bei nur  $326 \mu\text{eq/g}$ . Mögliche Minderbefunde wurden – wie bereits geschildert – für die ICP-AES-Analytik erwartet.

Entscheidender als die absoluten Kapazitätswerte sind ohnehin die Korrelationen der Ergebnisse der verschiedenen Methoden untereinander. So können alle Varianten der Kapazitätsbestimmung gute Ergebnisse für den Vergleich unter den Austauschermaterialien liefern, absolut betrachtet aber stark voneinander abweichen. Um die Korrelation zwischen den Ergebnissen der Elementaranalyse und der ICP-AES-Analytik zu beurteilen, sind auch diese Rohdaten in Abbildung 6.41 gegeneinander aufgetragen.

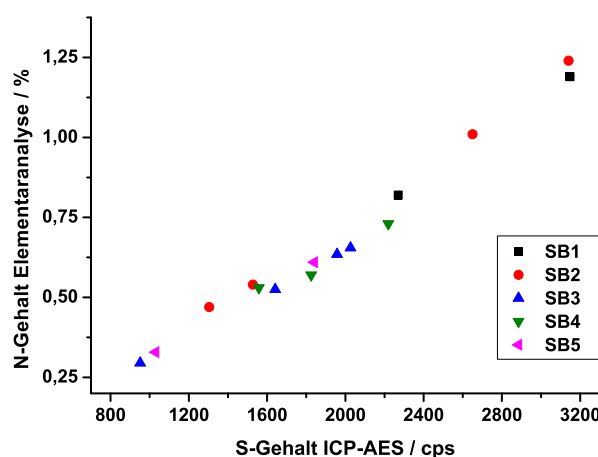


Abbildung 6.41: Korrelation der mittels Elementaranalyse bestimmten Stickstoffgehalte mit den via ICP-AES erhaltenen Schwefelgehalten (aufgetragen als Rohdaten in cps).

Auch diese Ergebnisse liegen auf einer Ursprungsgeraden, die Werte korrelieren also miteinander. Die Kapazitätsbestimmung mittels ICP-AES-Analytik liefert also ebenfalls gute Werte für die Anzahl an Austauschergruppen auf den stationären Phasen. Im Gegensatz zur Elementaranalytik kann diese Methode selbstständig durchgeführt werden. Der Aufwand der Probenvorbereitung ist jedoch ungleich höher, da zunächst exakte Mengen eingewogen, suspendiert und während der Messungen gerührt werden müssen. Die Messungen selbst sind ebenfalls zeitaufwändig, da die ICP-AES-Messungen keine Automatisierung der Probenaufgabe ermöglichen. Daher wird noch eine weitere Methode der Kapazitätsbestimmung über den Schwefelgehalt untersucht.

### 6.5.2.3 Kapazitätsbestimmung mittels Röntgenfluoreszenzanalyse

Die Röntgenfluoreszenzanalyse liefert ebenfalls Schwefelgehalte, im Gegensatz zur ICP-AES-Analytik und der Elementaranalyse jedoch ohne Zerstörung der Probe. Zudem können in der Röntgenfluoreszenzanalyse direkt Feststoffe vermessen werden, ohne eine vorangehende Suspension zu erfordern. Die Möglichkeit der automatisierten Probenaufgabe ist zudem auch gegeben. Es müssen lediglich möglichst exakt 250 mg der getrockneten Polymere in spezielle Probengefäße eingewogen werden. Neben der Trocknung – die für die Einwaage im Rahmen der ICP-AES-Analytik ebenfalls notwendig war – sind keine weiteren Probenvorbereitungsschritte erforderlich. Die Röntgenfluoreszenzanalytik erfüllt also alle angestrebten Anforderungen.

Nun muss jedoch noch geklärt werden, ob diese Methode auch gute Ergebnisse für die Schwefelgehalte der verschiedenen stationären Phasen liefert. In Abbildung 6.42 sind die mittels Röntgenfluoreszenzanalyse bestimmten Schwefelgehalte in counts per second gegen die in der EVO-Synthese eingesetzten Ionomermengen aufgetragen.

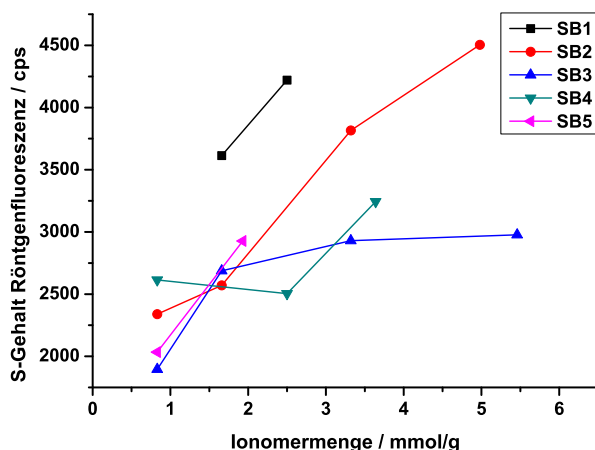


Abbildung 6.42: Mittels Röntgenfluoreszenzanalyse bestimmte Schwefelgehalte der verschiedenen zwitterionischen Austauschermaterialien. Aufgetragen sind die Rohdaten in counts per second (cps).

Auch die Ergebnisse der Röntgenfluoreszenzanalyse zeigen das bekannte Aussehen. Die Absolutwerte der Kapazitäten liegen – ähnlich wie bei der ICP-AES-Analytik – im mittleren Bereich. So kann für das **SB2**-Material mit der höchsten Kapazität ein Wert von  $220 \mu\text{eq/g}$  berechnet werden. Diese Absolutwerte liegen – verglichen mit den von *Theis*<sup>[118]</sup> für Anionenaustauscher beobachteten Kapazitäten – in einem realistischen Bereich. Für die Kalibrierung der Röntgenfluoreszenz-Methode werden unfunktionalisierte Polymersuspensionen mit Ammoniumsulfat versetzt. Das Lösungsmittel wird bei 333 K entfernt und das zurückbleibende Material mit einem Spatel in einem Glasgefäß als Feststoff nochmals homogenisiert. Die Matrix der Standards ist also mit der Matrix der Proben identisch. Somit besteht eine hohe Wahrscheinlich-



keit, dass die Absolutwerte der Röntgenfluoreszenzanalytik nahe an den wahren Kapazitäten der Austauschermaterialien liegen. Um auch für diese Methode noch einen graphischen Vergleich zu den vorangegangenen Methoden anzustellen, sind in Abbildung 6.43 die Ergebnisse der Röntgenfluoreszenzanalytik gegen die Stickstoffgehalte der Elementaranalytik aufgetragen.

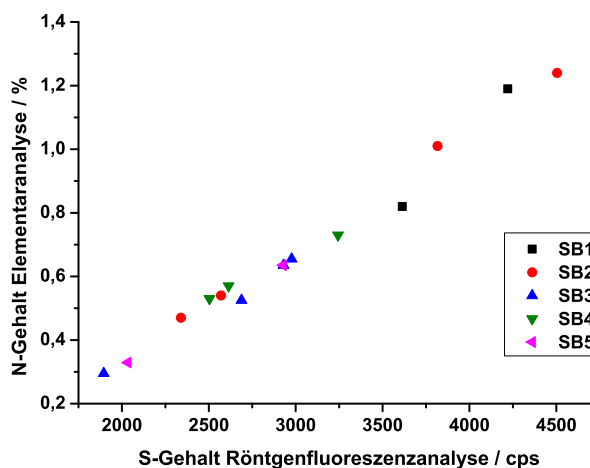


Abbildung 6.43: Korrelation der mittels Elementaranalyse bestimmten Stickstoffgehalte mit den via Röntgenfluoreszenz erhaltenen Schwefelgehalten (aufgetragen als Rohdaten in cps).

Genau wie bei den anderen bisher gezeigten Methodenvergleichen ist auch für diesen Vergleich eine Korrelation – zu erkennen am linearen Zusammenhang – eindeutig gegeben. Die Röntgenfluoreszenzanalytik liefert demnach ebenfalls gute Ergebnisse für die Kapazitäten der untersuchten stationären Phasen.

Abschließend kann also festgestellt werden, dass alle gezeigten Methoden zur Kapazitätsbestimmung vergleichbare Ergebnisse liefern. Die Korrelation der verschiedenen Bestimmungsvarianten konnte deutlich herausgestellt werden. Einzig die Absolutwerte der Kapazitäten, die aus den erhaltenen Rohdaten berechnet werden können, weichen – zum Teil stark – voneinander ab. Während die Elementaranalytik mit Abstand die höchsten Werte liefert, liegen die Ergebnisse der dynamischen Methoden am niedrigsten. Die Werte der Röntgenfluoreszenzanalyse sowie der ICP-AES-Analytik liegen zwischen diesen Extrema und zudem recht dicht beisammen. Welche der ermittelten Absolutwerte am realistischsten ist, kann jedoch für die im Rahmen dieser Arbeit angestellten Untersuchungen dahingestellt bleiben. Interessant ist es, stationäre Phasen aller fünf zwitterionischer funktioneller Gruppen zu erzeugen, die vergleichbare Kapazitäten aufweisen. Werden diese mit derselben Methode bestimmt, ist zumindest die Vergleichbarkeit untereinander gegeben.

### 6.5.3 Herstellung zwitterionischer Austauscher vergleichbarer Kapazitäten

Aufgrund der unproblematischen Probenvorbereitung, der zerstörungsfreien Analytik sowie der schnellen Messungen mit automatisierter Probenaufgabe wird im weiteren Verlauf der Arbeit die Röntgenfluoreszenzanalytik bevorzugt. Die in den vorangegangenen Abschnitten gezeigten Untersuchungen wurden allesamt an Austauschermaterialien durchgeführt, die bei einer Reaktionstemperatur von 343 K in der EVO-Synthese hergestellt wurden. Bezogen auf die Anionentrennung haben diese Materialien jedoch Retentionsfaktoren gezeigt, die sich mit den ermittelten Kapazitäten nicht in Einklang bringen lassen (siehe Punkt 6.5.1.4). So fällt z. B. besonders auf, dass die **SB3**-Materialien mit Ionomermengen von 3,64 mmol/g und 5,46 mmol/g beinahe identische Kapazitäten aufweisen. Dennoch sind die Retentionsfaktoren des Materials mit 3,64 mmol Ionomer pro Gramm PS/DVB deutlich höher als die des Materials mit mehr Ionomer pro Gramm PS/DVB (siehe Abbildung 6.36).

Ein Erklärungsversuch über ideale Austauschergruppendichten, die zu besonders hohen Retentionsfaktoren für bestimmte Materialien führen, wurde bereits geliefert. Speziell bei den **SB3**-Materialien konnte jedoch zusätzlich noch beobachtet werden, dass der Staudruck des Materials, das mit der höchsten Ionomermenge in der EVO-Synthese umgesetzt wurde, deutlich über den Staudrücken der übrigen **SB3**-Austauscher lag.

Wie bereits von *Rieß* postuliert, könnte eine solche Staudruckerhöhung auf eine Veränderung der Art der Belegung schließen lassen<sup>[39]</sup>. *Rieß* hat über die hydrophobe Belegung der Grundkörper mit Homopolymerketten argumentiert. Dies kann im Rahmen dieser Arbeit jedoch – durch die erfolgten Spülschritte der stationären Phasen mit Acetonitril – ausgeschlossen werden. Dennoch könnte eine vermehrte Kettenbildung für die beobachteten Phänomene verantwortlich sein. Denkbar ist nämlich auch das Kettenwachstum an der stationären Phase selbst bzw. die kovalente Anbindung von Homopolymerketten. Es ist vorstellbar, dass solche Effekte besonders bei hohen Ionomerkonzentrationen in der EVO-Reaktionslösung auftreten. Das chromatographische Verhalten von Austauschern mit kovalent angebundenen Homopolymerketten wird sich sicherlich vom Verhalten eines Austauschers mit einer Monolage an funktionellen Gruppen unterscheiden. So werden sich stationäre Phasen dieser beiden Funktionalisierungsarten in erster Linie in ihren lokalen Austauscherkapazitäten bzw. Austauschergruppendichten unterscheiden. Über die elementaranalytischen Methoden der Kapazitätsbestimmung sind diese lokalen Austauschergruppendichten nicht zugänglich, sondern nur die Gesamtkapazitäten. Unabhängig von der Frage, ob die niederkapazitiven Austauscher tatsächlich nur eine Monolage an funktionellen Gruppen tragen, könnte ein solcher Unterschied in der Art der Funktionalisierung das unterschiedliche chromatographische Verhalten der genannten **SB3**-Austauscher erklären.

Aus diesem Grund – und aufgrund der Tatsache, dass die zwitterionischen Monomere sehr hohe Homopolymerisationsgeschwindigkeiten aufweisen – werden EVO-Synthesen bei einer auf 333 K reduzierten Reaktionstemperatur durchgeführt. Exemplarisch sind die Unterschiede der erhaltenen Kapazitäten am Beispiel der **SB3**-Materialien in Abbildung 6.44 gezeigt.

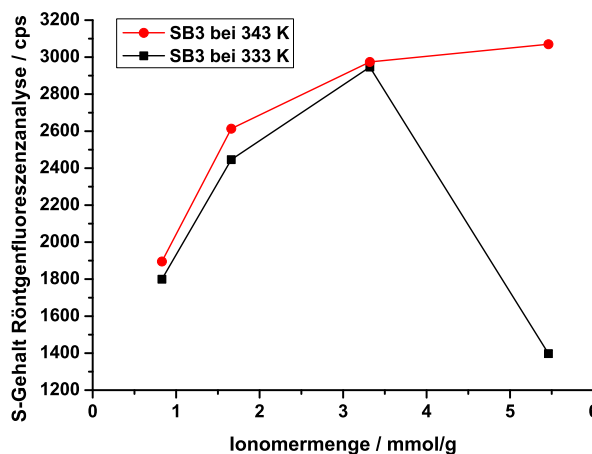


Abbildung 6.44: Mittels Röntgenfluoreszenzanalyse bestimmte Kapazitäten von **SB3**-Austauschern, die bei unterschiedlichen Reaktionstemperaturen in der EVO-Synthese hergestellt wurden.

Während sich die Kapazität bei Steigerung der Ionomermenge von 3,64 mmol/g auf 5,46 mmol/g bei einer Reaktionstemperatur von 343 K quasi nicht ändert, kommt es bei einer Reaktionstemperatur von 333 K zu einem drastischen Abfall. Ein ähnliches Verhalten wurde bereits für anionische Monomere beobachtet<sup>[37]</sup>. Die Steigerung der Ionomermenge führt – abhängig vom verwendeten Ionomer – irgendwann nicht mehr zu einer Erhöhung, sondern wieder zu einem Abfall der Kapazitäten. Als Erklärung hierfür könnte wiederum die Bildung von Homopolymerketten dienen. Mit steigender Ionomerkonzentration in der Reaktionslösung werden radikalische Reaktionen zwischen zwei Monomeren bzw. zwischen Monomeren und Monomerketten wahrscheinlicher. Bei einer Reaktionstemperatur von 333 K können diese Homopolymerketten jedoch aus Gründen einer zu geringen Beweglichkeit nicht mehr an die Polymerpartikel angebunden werden. Die Kapazitäten sinken.

Bei einer Reaktionstemperatur von 343 K kommt es sicherlich ebenfalls zur vermehrten Homopolymerbildung mit steigender Ionomerkonzentration in der Reaktionslösung. Bei dieser Temperatur scheinen die Homopolymerketten jedoch ausreichend beweglich zu sein, um noch ans Polymer angebunden zu werden. Möglicherweise kommt es bei der höheren Reaktionstemperatur aber auch zum vermehrten Kettenwachstum an der Polymeroberfläche, welches bei 333 K nicht auftritt. Welche Vermutung die Beobachtung besser erklärt, ist jedoch nicht weiter von Interesse. Entscheidend ist die Tatsache, dass die bei 333 K erzeugten stationären Phasen die gleiche maximal mögliche Kapazität aufweisen, wie Austauscher, die bei 343 K hergestellt wurden. Alle bei

niedrigeren Temperaturen synthetisierten Materialien zeigen aber bei identischen chromatographischen Bedingungen um mindestens 40% reduzierte Staudrücke. Allein diese Tatsache spricht für die weitere Verwendung einer Reaktionstemperatur von 333 K in der EVO-Synthese.

Streng genommen müssten nun für alle Austauschermaterialien nochmals vollständige Messreihen mit steigenden Ionomermengen in der EVO-Synthese bei 333 K durchgeführt werden. Da dies jedoch einen enormen zeitlichen Aufwand sowie einen hohen Ionomerverbrauch bedeuten würde, wird auf diese Untersuchungen verzichtet. Die Betrachtung der Temperaturunterschiede der **SB3**-Materialien hat schließlich auch gezeigt, dass zumindest bei Ionomermengen von bis zu 3,64 mmol/g keine signifikanten Unterschiede in den erhaltenen Kapazitäten zu beobachten sind. Aus diesem Grund werden die nachfolgenden Synthesen unter Zuhilfenahme der bei 343 K ermittelten Ionomerabhängigkeiten der Synthesen fortgesetzt. Es werden also die Kapazitäten von stationären Phasen zugrundegelegt, die bei einer Reaktionstemperatur von 343 K erzeugt wurden.

Um nun zwitterionische Austauschermaterialien mit unterschiedlichen Abständen zwischen den Ladungen und vergleichbaren Kapazitäten zu erzeugen, wird zunächst das Material mit der niedrigst möglichen Kapazität gesucht. Dieser Wert bestimmt als kleinster gemeinsamer Nenner die Kapazitäten der herzustellenden homologen Reihe zwitterionischer Austauscher. Unter Berücksichtigung der Kapazitätsbestimmungen von **SB3**-Austauschern, die bei 333 K synthetisiert wurden, stellt sich das **SB3**-Material, welches mit 3,64 mmol Ionomer pro Gramm PS/DVB umgesetzt wurde, als kapazitätsbestimmend heraus.

Es wird daher in der Auftragung der mittels Röntgenfluoreszenzanalyse ermittelten Schwefelgehalte gegen die eingesetzten Ionomermengen (siehe Abbildung 6.45) eine horizontale Linie auf Höhe des Schwefelgehaltes dieses Materials gezogen.

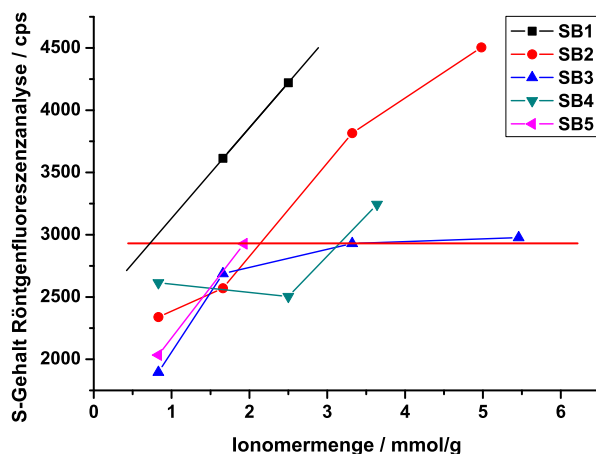


Abbildung 6.45: Ansatz für die Erzeugung zwitterionischer Austauscher unterschiedlicher Abstände zwischen den Ladungen mit vergleichbaren Kapazitäten.

Diese rot dargestellte Linie schneidet zwangsläufig die Kapazitätsauftragungen der stationären Phasen der anderen zwitterionischen Monomere. Lediglich für die **SB1**-Austauscher kann kein Schnittpunkt beobachtet werden, da die bislang untersuchten Austauscher deutlich zu hohe Kapazitäten aufgewiesen hatten. Für die **SB1**-Materialien wird der Kapazitätsverlauf daher linear extrapoliert. Somit ergibt sich für das **SB1**-Material eine Ionomermenge von 0,73 mmol/g. Für das **SB2**-Material liegt die einzusetzende Ionomermenge bei 2,13 mmol/g, für den **SB4**-Austauscher bei 3,15 mmol/g und für die stationäre Phase des **SB5**-Ionomers bei 1,93 mmol/g.

Zunächst werden stationäre Phasen mit diesen Ionomermengen in der EVO-Synthese als 1 g-Ansätze hergestellt und im Anschluss daran deren Kapazitäten mittels Röntgenfluoreszenzanalyse bestimmt. Für die **SB3**- und **SB5**-Austauscher ergeben sich direkt Materialien mit vergleichbaren Kapazitäten. Die anderen Austauscher zeigen leicht von der gewünschten Kapazität abweichende Werte. Dies wird durch simple Dreisatzberechnungen kompensiert und so lange wiederholt, bis Austauscher mit vergleichbaren Kapazitäten für alle zwitterionischen Austauschergruppen erhalten werden. Die hierfür notwendigen Ionomermengen, die in der EVO-Synthese eingesetzt werden müssen sowie die erhaltenen Kapazitäten sind in Tabelle 6.11 zusammengefasst.

Tabelle 6.11: In der EVO-Synthese eingesetzte Ionomermengen, die für alle zwitterionischen Austauscher zu vergleichbaren Kapazitäten führen.

Austauscher	<b>SB1-5</b>	<b>SB2-11</b>	<b>SB3-26</b>	<b>SB4-8</b>	<b>SB5-4</b>
Ionomermenge / mmol/g	0,93	2,47	3,64	1,78	1,93
Kapazität / $\mu\text{eq/g}$	133	130	133	126	125

Bei den angegebenen Kapazitätswerten handelt es sich um Ergebnisse, die durch Umrechnung aus den mittels Röntgenfluoreszenzanalyse erhaltenen Schwefelgehalten ermittelt wurden. Um einen besseren Überblick über die Vergleichbarkeit der Kapazitäten zu gewährleisten, sind diese in Abbildung 6.46 graphisch gegenübergestellt.

Die Kapazitäten liegen zwischen 133  $\mu\text{eq/g}$  und 125  $\mu\text{eq/g}$ , weichen also nur um etwa sechs Prozent voneinander ab. Bei diesen geringen Abweichungen kann von Austauschermaterialien mit vergleichbaren Kapazitäten gesprochen werden. Mit den hergestellten stationären Phasen sind demnach vergleichende chromatographische Untersuchungen möglich. Diese Untersuchungen sollten aussagekräftige Abhängigkeiten der chromatographischen Eigenschaften der Austauscher von den Abständen zwischen den Ladungen der funktionellen Gruppen liefern.

Neben den hergestellten zwitterionischen stationären Phasen werden auch die später als Referenztrennsäulen eingesetzten kommerziellen Austauscher ZIC-HILIC und ZIC-PHILIC (Se-

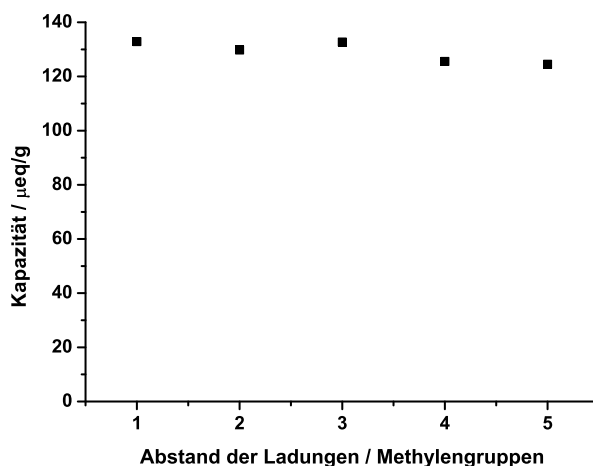


Abbildung 6.46: Vergleich der Kapazitäten der hergestellten zwitterionischen Austauscher mit unterschiedlichen Abständen zwischen den Ladungen.

Quant/Merck, Darmstadt, Deutschland) auf ihre Austauscherkapazitäten hin untersucht. Aufgrund der hohen benötigten Materialmengen (250 mg) und der hohen Materialkosten für die kommerziellen Phasen, können die Kapazitäten dieser Austauscher nicht mittels Röntgenfluoreszenzanalyse bestimmt werden. Daher werden sowohl Stickstoffbestimmungen durch Elementaranalyse als auch Schwefelbestimmungen mittels ICP-AES durchgeführt.

Die beiden Methoden liefern für die kommerziellen stationären Phasen Austauscherkapazitäten von  $186 \mu\text{eq/g}$  für den ZIC-HILIC-Austauscher und  $201 \mu\text{eq/g}$  für die ZIC-pHILIC-Trennsäule. Die Kapazitäten liegen also um 43% bzw. 54% über denen der hergestellten homologen Reihe an Sulfobetain-Austauschern. Diese Kapazitätsunterschiede müssen für die später zu erfolgenden, vergleichenden chromatographischen Charakterisierungen der stationären Phasen berücksichtigt werden.

## 6.6 Chromatographische Charakterisierung mittels Reinstwasser Eluenten

Durch die eingehenden Untersuchungen an den zwitterionischen Monomeren und die Entwicklung einer zuverlässigen Methode zur Kapazitätsbestimmung, liegen nun Trennsäulen der fünf zwitterionischen Materialien mit vergleichbaren Kapazitäten vor. Neben Untersuchungen an diesem homologen Satz an Trennsäulen der Dimension  $4 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ , werden im weiteren Verlauf der Arbeit auch immer wieder chromatographische Messungen an höherkapazitiven Austauschern der Dimension  $2 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$  durchgeführt.

Der Vergleich der Austauscher ähnlicher Kapazitäten liefert dabei jeweils Erkenntnisse, die

auf die Abhängigkeit chromatographischer Eigenschaften vom Abstand der geladenen Gruppen schließen lassen. Die höherkapazitiven Austauscher – meist Materialien mit C2-Abstand zwischen Amin und Sulfonsäure – werden hingegen eingesetzt, um aufzuzeigen, welche weiterführenden Möglichkeiten zwitterionische Austauscher bieten. So eignen sich Austauscher mit höheren Kapazitäten, als der maximal mit dem **SB3**-Material erreichbaren Kapazität, besonders gut für spezielle Trennprobleme. Gerade die **SB1**- und **SB2**-Austauscher können – wie bereits in Abbildung 6.45 gezeigt wurde – mit deutlich höheren Austauschergruppendichten hergestellt werden und ermöglichen in diesem Kapazitätsbereich z. T. Trennungen, die mit den niederkapazitiven Austauschern nur schlecht, oder gar nicht möglich sind.

Zunächst wird im Rahmen erster Voruntersuchungen versucht, zwitterionische Materialien – entsprechend diverser Literaturquellen<sup>[59][61]</sup> – unter Verwendung von Reinstwasser als Eluent, für die Trennung anorganischer Ionen einzusetzen.

Der besondere Vorteil dieser Methode liegt – wie bereits unter Punkt 2.5.1 dargestellt – in der Verwendung der unsuppressierten Leitfähigkeitsdetektion, die aufgrund des Mangels an Elutionen ein sehr niedriges Grundsignal aufweist. Die vergleichsweise unspezifische Leitfähigkeitsdetektion, die somit universell für ionische Substanzen eingesetzt werden kann, gewinnt durch diese Ausführungsform deutlich an Empfindlichkeit.

Zudem ist mithilfe der ZIC mit Reinstwasser eine quasi-simultane Bestimmung von Anionen und Kationen möglich<sup>[61]</sup>. Anzumerken ist dabei jedoch, dass die Anionen und Kationen aufgrund des Erfordernisses von Ladungsneutralität grundsätzlich nur als Quasi-Ionenpaare mit der stationären Phase wechselwirken können. Die Trennung der Analytionen erfolgt daher auch in Form von Ionenpaaren. Jede mögliche Anionen/Kationen-Kombination liefert ein Signal, dessen Größe von der Stabilität des Anionen/Kationen-Paares abhängt<sup>[61]</sup>.

Dies wiederum stellt einen der Nachteile dieser Methode dar. Zum einen sind für ein Gemisch aus  $n$  Kationen und  $m$  Anionen insgesamt  $n \cdot m$  Signale zu beobachten. Die Anzahl der Signale steigt also mit steigender Anzahl an Analytionen drastisch an. Zum anderen liefert im Umkehrschluss ein Anion oder Kation nicht ein Signal, sondern es eluiert bei mehreren Retentionszeiten von der Trennsäule. Der Gehalt eines Ions kann demnach nicht direkt über die Peakfläche eines Signals bestimmt werden, sondern muss grundsätzlich als Summe mehrerer Signale aufgefasst werden, deren Gesamtsignalfläche wiederum die Summe aus Anionen- und Kationenleitfähigkeiten darstellt. Die Quantifizierung erfordert demnach einen hohen rechnerischen Aufwand, der mittels moderner Computertechnik jedoch prinzipiell zu bewältigen sein sollte.

Um zu untersuchen, ob und inwiefern diese Methode sich mithilfe der hergestellten homologen Reihe an Sulfobetainaustauschern umsetzen lässt, werden zunächst erste Voruntersuchungen un-

ter Einsatz der Materialien **SB2-2** (0,83 mmol Ionomer pro g Polymer in der EVO-Synthese), **SB2-5** (1,66 mmol Ionomer pro g Polymer in der EVO-Synthese) sowie **SB2-3** (3,32 mmol Ionomer pro g Polymer in der EVO-Synthese) in der Dimension  $2 \times 100$  mm durchgeführt. Die Trennsäulen werden dabei mit Reinstwasser als Packflüssigkeit gepackt und im Anschluss direkt im chromatographischen System mit Reinstwassereluent eingesetzt. Zur Vereinfachung der Trennungen werden zwei Standardgemische verwendet. Ein Gemisch besteht aus den Anionen Fluorid, Chlorid, Bromid, Nitrat und Nitrit, die alle aus Salzen des selben Kations ( $\text{Na}^+$ ) hergestellt wurden. Ein weiteres Gemisch enthält die Kationen Lithium, Natrium, Kalium, Ammonium, Calcium sowie Magnesium als Chloridsalze.

### 6.6.1 Trennung von Anionengemischen

Das niederkapazitivste Material **SB2-2** zeigt bei dieser Untersuchung weder für das Anionengemisch, noch für das Kationengemisch, eine Antrennung der Analyten. Es kommt jeweils zur Co-elution aller Ionenpaare im Totvolumen. Das höherkapazitive Material **SB2-5** hingegen bewirkt zumindest eine Gruppentrennung der Anionen, während der Austauscher **SB2-3** eine Auftrennung aller fünf Anionen ermöglicht. Die entsprechenden Chromatogramme sind in Abbildung 6.47 dargestellt.

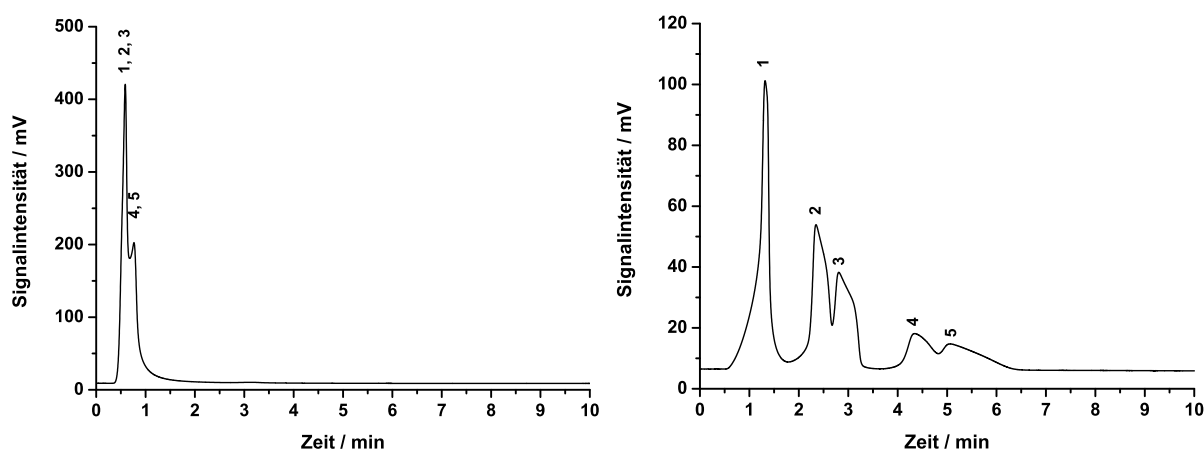


Abbildung 6.47: Gegenüberstellung zweier Trennungen eines Gemisches aus fünf anorganischen Anionen. 1)  $\text{NaF}$ , 2)  $\text{NaCl}$ , 3)  $\text{NaNO}_2$ , 4)  $\text{NaBr}$ , 5)  $\text{NaNO}_3$ . Trennsäule: links **SB2-5-1**, rechts **SB2-3-1**, Eluent: Reinstwasser, unsupprimierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife:  $5 \mu\text{l}$ , Säulendimension:  $2 \text{ mm} \times 100 \text{ mm}$ .

Zwar sind die Peakformen der Trennsäule **SB2-3-1** nicht zufriedenstellend, der deutliche Unterschied in den Trennleistungen der beiden Austauscher in Abhängigkeit der eingesetzten Ionomermengen in der EVO-Synthese ist jedoch deutlich zu erkennen. Unterschiedliche Iono-



mermengen führen grundsätzlich zu unterschiedlichen Austauscherkapazitäten. Dies wiederum bedingt Unterschiede in den Trennungen. Zudem kann gezeigt werden, dass die Trennung eines Anionengemisches mit Salzen einer Kationensorte durchaus möglich ist.

Aber auch der Abstand zwischen den Ladungen sollte einen Einfluss auf die ZIC-Trennungen unter Verwendung von Reinstwasser als Eluent haben. So werden zudem Voruntersuchungen an Austauschern des Sulfobetains mit vier Methylengruppen zwischen den Ladungen (**SB4**) durchgeführt, die allesamt keine Trennung der Analytanionen erzielen. Alle **SB4**-Austauscher der Dimension 2 mm × 100 mm (**SB4-1** bis **SB4-5**) zeigen Coelution der Ionenpaare im Totvolumen. Das **SB4**-Material scheint demnach weniger für Anionentrennungen geeignet zu sein, als die **SB2**-Phasen.

### 6.6.2 Einfluss der Konditionierung der Materialien

Nachdem die ersten Anionentrennungen durchgeführt wurden, werden die hergestellten Austauscher – vornehmlich mit C2-Abstand – für Vorversuche zur dynamischen Kapazitätsbestimmung eingesetzt. Hierzu kommen Natriumhydroxid-, Natriumiodid- und Natriumsulfatlösungen im Konzentrationsbereich von 5 mmol/l bis 200 mmol/l zum Einsatz (vgl. Punkt 6.5). Im Anschluss daran werden die Materialien wieder auf Reinstwasser als Eluent umgespült und mit erstaunlichen Ergebnissen erneut für Anionentrennungen eingesetzt. Der Spülschritt mit Reinstwasser wird dabei für alle Austauscher über einen Zeitraum von je 48 h durchgeführt, um sicherzustellen, dass alle Elutionen von der stationären Phase entfernt wurden.

Bei der erneuten Trennung des Anionengemisches (als Natrium-Ionenpaare) zeigt nun bereits die Trennsäule **SB2-2-1** (0,83 mmol Ionomer pro g Polymer in der EVO-Synthese) eine deutliche Antrennung der Analyten. Das Chromatogramm dieser Trennung ist in Abbildung 6.48 dargestellt.

Auch diese Trennung stellt noch keine Basislinientrennung dar, genau genommen kommt es sogar noch zur Coelution von Bromid und Nitrat. Dennoch kann bei diesem Chromatogramm bereits von einer chromatographischen Trennung gesprochen werden, während vor der Kapazitätsbestimmung lediglich ein breites, nicht getrenntes Signal für alle fünf Analyten beobachtet werden konnte. Die Vorbehandlung der zwitterionischen Materialien – die sogenannte Konditionierung – hat folglich einen enormen Einfluss auf die Trennleistungen der Austauscher. Noch besser kann dieser Effekt unter Verwendung stärker retardierter Analytanionen gezeigt werden. Daher wird ein weiterer Standard bestehend aus Natriumchlorid, Natriumbromid, Natriumiodid und Natriumthiocyanat eingesetzt. Graphisch kann die Steigerung der Retentionszeiten durch

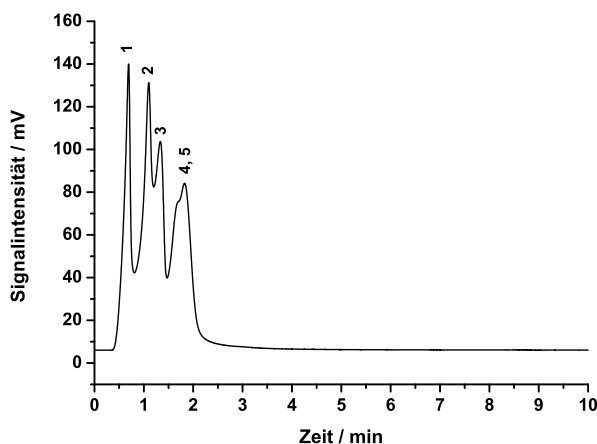


Abbildung 6.48: Trennungen eines Gemisches aus fünf anorganischen Anionen. 1) NaF, 2) NaCl, 3) NaNO<sub>2</sub>, 4) NaBr, 5) NaNO<sub>3</sub>. Trennsäule: **SB2-2-1**, Eluent: Reinstwasser, unsupprimierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Konditionierung der Trennsäulen verdeutlicht werden, indem die Retentionsfaktoren der Anionen vor der Kapazitätsbestimmung mit denen nach der Kapazitätsbestimmung gegenübergestellt werden. Dies ist für die Trennsäule **SB2-2-1** in Abbildung 6.49 gezeigt.

Durch Spülen der Trennsäule mit Eluenten, die Elutionen enthalten, kann so z. B. der Retentionsfaktor für Natriumiodid von 1,1 auf 7,4 gesteigert werden. Dies entspricht einer Erhöhung um über 570%. Vergleichbare Steigerungen werden für alle Ionenpaare erhalten.

Analoge Effekte werden auch für die übrigen Austauschere mit C2-Abstand zwischen den Ladungen beobachtet. Besonders gut sind diese Effekte an Chromatogrammen der Trennsäule **SB2-3-1** zu erkennen. Dieses Material zeigte bereits vor der Konditionierung brauchbare Trennungen des Gemisches aus fünf Anionen. Durch die Vorbehandlung im Rahmen der Kapazitätsbestimmungen konnte dieser positive Eindruck weiter verbessert werden. Die Chromatogramme der Anionentrennungen vor und nach der Kapazitätsbestimmung sind in Abbildung 6.50 gegenübergestellt.

Während Natriumbromid vor der Konditionierung eine Retentionszeit von 4,4 min aufweist, kann nach der Kapazitätsbestimmung eine Steigerung auf 20,2 min beobachtet werden. Nitrat liefert bei der sehr späten Elution kein erkennbares Signal mehr.

Eine weitere Erkenntnis, welche die Beobachtungen aus Punkt 6.5.1.4 bestätigt, wird im Vergleich der Trennsäulen **SB2-3-1** und **SB2-4-1** deutlich. Unter Punkt 6.5.1.4 wurde die Annäherung der Austauscherkapazitäten zwitterionischer stationärer Phasen über die Trennung von Anionen unter Verwendung eines hochkonzentrierten Natriumsulfat-Eluenten diskutiert. Dabei

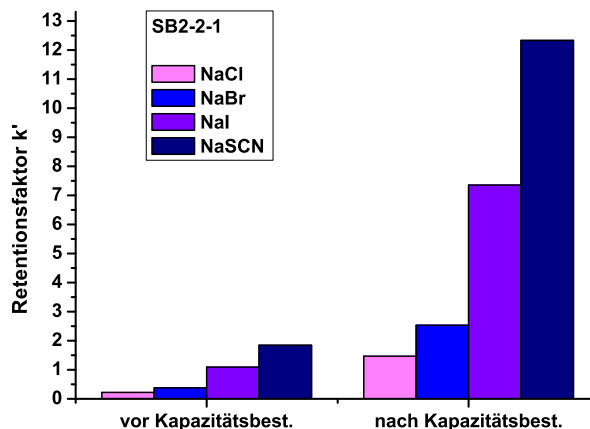


Abbildung 6.49: Gegenüberstellung der Retentionsfaktoren von vier anorganischen Anionen (Natrium-Ionenpaare) für den Austauscher **SB2-2-1** vor und nach der Kapazitätsbestimmung. Eluent: Reinstwasser, unsupprimierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

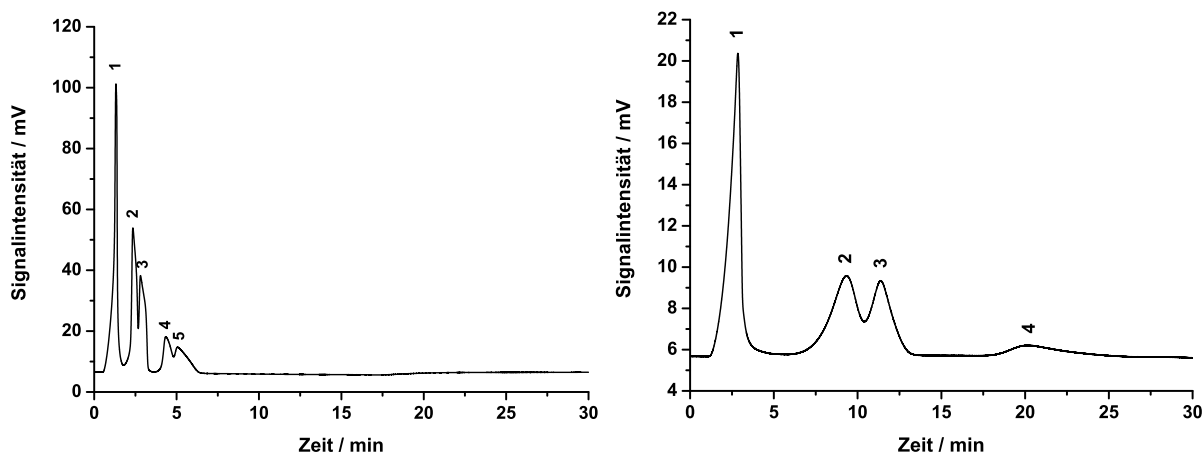


Abbildung 6.50: Trennungen eines Gemisches aus fünf anorganischen Anionen. 1) NaF, 2) NaCl, 3) NaNO<sub>2</sub>, 4) NaBr, 5) NaNO<sub>3</sub> unter Verwendung des Austauschers **SB2-3-1**. Links: vor der Kapazitätsbestimmung, rechts: nach der Kapazitätsbestimmung. Eluent: Reinstwasser, unsupprimierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

konnte gezeigt werden, dass z. B. das Material **SB2-4-1**, welches im Rahmen der EVO-Synthese mit einer größeren Menge an Ionomer pro Gramm Grundmaterial umgesetzt wurde, niedrigere Retentionszeiten für die Anionen zeigt, als der Austauscher **SB2-3-1**.

Dies konnte beobachtet werden, obwohl die Kapazitätsbestimmung über den Schwefelgehalt mittels Elementaranalyse (siehe Abbildung 6.37) für das **SB2-4**-Material einen höheren Gehalt an funktionellen Gruppen bestätigt hat. Analog zu den Anionentrennungen unter Verwendung des Sulfat-Eluenten zeigt der Austauscher **SB2-4-1** jedoch auch unter ZIC-Bedingungen mit Reinstwasser als Eluent eine geringere Anionenretention, als sie bei dem Material **SB2-3-1** beobachtet werden kann. Die Anionentrennung der bereits konditionierten **SB2-4-1**-Trennsäule ist in Abbildung 6.51 gezeigt.

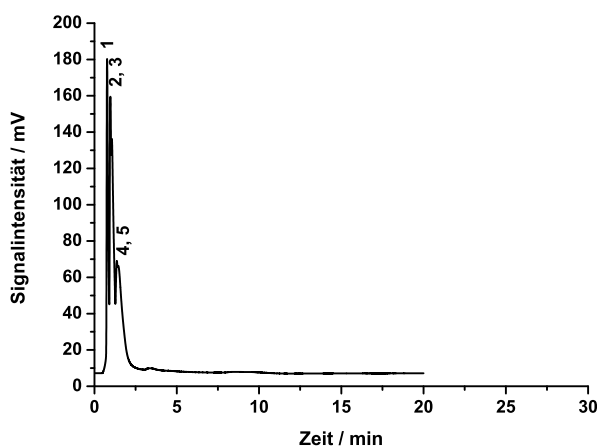


Abbildung 6.51: Trennungen eines Gemisches aus fünf anorganischen Anionen. 1) NaF, 2) NaCl, 3) NaNO<sub>2</sub>, 4) NaBr, 5) NaNO<sub>3</sub>. Trennsäule: **SB2-4-1**, Eluent: Reinstwasser, unsupprimierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Im direkten Vergleich zu Abbildung 6.50 zeigt das höherkapazitive Material lediglich eine vernachlässigbare Antrennung der Analyten. Zur besseren Vergleichbarkeit sind die Abszissen beider Chromatogramme gleich skaliert. So liefert die Konditionierung zwar auch für den Austauscher **SB2-4-1** eine Erhöhung der Anionenretention, die Unterschiede zwischen den Materialien verschiedener Kapazitäten sind jedoch bemerkenswert und die beobachteten Effekte nicht trivial.

Trotz einer nachgewiesenen, leicht erhöhten Gesamtzahl an Austauschergruppen, ist die Trennfähigkeit des höherkapazitiven Austauschers deutlich reduziert. Die Gründe hierfür können z. B. in einer zu hohen lokalen Kapazität der Austauschergruppen liegen. Steigert man die Austauschergruppendichte zwitterionischer Austauschermaterialien zu stark, wäre eine sehr dichte Belegung der Grundpartikeloberfläche denkbar. Die funktionellen Gruppen lägen dann so dicht

beisammen, dass die Zugänglichkeit der einzelnen Austauschergruppen durch den sterischen Raumbedarf vermindert wäre. Dies würde jedoch eine extrem dichte Belegung in der EVO-Synthese voraussetzen, die eher unwahrscheinlich erscheint.

Eine weitere denkbare Erklärung für die beobachteten Effekte ist ein Unterschied der beiden Austauscher in der Art der Belegung. Dies wurde am Beispiel der C3-Materialien bereits unter Punkt 6.5.3 in Zusammenhang mit erhöhten Staudrücken diskutiert. Eine Erhöhung der Ionomermenge in der EVO-Synthese kann grundsätzlich zu einer erhöhten Tendenz der Homopolymerisation führen. Die gebildeten Homopolymerketten könnten letztlich entweder eine Belegung (*coating*) der PS/DVB-Grundkörper anstelle einer kovalenten Anbindung verursachen, sie könnten aber auch als Homopolymerketten an das Trägermaterial angebunden werden. In beiden Fällen würde das Vorhandensein von Homopolymerketten zu sehr hohen lokalen Kapazitäten bzw. Dichten an Austauschergruppen führen. Bei Belegung des Trägermaterials mit einer Monolage an Austauschergruppen sind diese statistisch über das gesamte Material verteilt. Bei einer Anbindung oder einem *Coating* von Homopolymerketten würde eine große Zahl funktioneller Gruppen – bzw. kovalent aneinander gebundener Ionomermoleküle – in enger räumlicher Nähe vorliegen. Die damit verbundene hohe lokale Kapazität erschwert wiederum die Zugänglichkeit der einzelnen Austauscherfunktionen wodurch die beobachteten Phänomene erklärt werden könnten.

### 6.6.3 Trennung von Kationengemischen

Neben der Trennung von Gemischen verschiedener Anionen unter Beibehaltung von  $\text{Na}^+$  als Gegenion werden – wie bereits beschrieben – auch Trennungen von Kationengemischen unter Beibehaltung von  $\text{Cl}^-$  als Gegenion durchgeführt. Die meisten Trennsäulen der Dimension  $2\text{ mm} \times 100\text{ mm}$  zeigen dabei keine Trennung und somit Coelution aller Ionenpaare im Totvolumen. Dies entspricht den Ergebnissen von *Hu et al.*, die zeigen konnten, dass Sulfobetain austauscher mit innenliegender Anionenaustauscherfunktion hauptsächlich für die Trennung von Anionen geeignet sind, Kationen hingegen kaum retardiert werden<sup>[61]</sup>. Um gute Kationentrennungen erreichen zu können, müssten Austauscher mit invertierten Ladungsverhältnissen eingesetzt werden. Zu diesen zählen die Phosphocholinaustauscher mit innenliegender Phosphonsäuregruppe und außenliegendem quartärem Amin<sup>[61][66][144]</sup>.

Dennoch sind mit Sulfobetain austauschern zumindest Gruppentrennungen der Kationen möglich. Dies ist in Abbildung 6.52 für die C2-Materialien **SB2-3-1** und **SB2-4-1** dargestellt.

In diesen Chromatogrammen ist für beide Austauscher eine Gruppentrennung oder zumindest Gruppenantrennung zu erkennen. Zwar ist die Effizienz der **SB2-3-1**-Trennsäule deutlich niedriger, als die der rechts abgebildeten Trennsäule, dennoch ist die Ausbildung zweier Signale klar

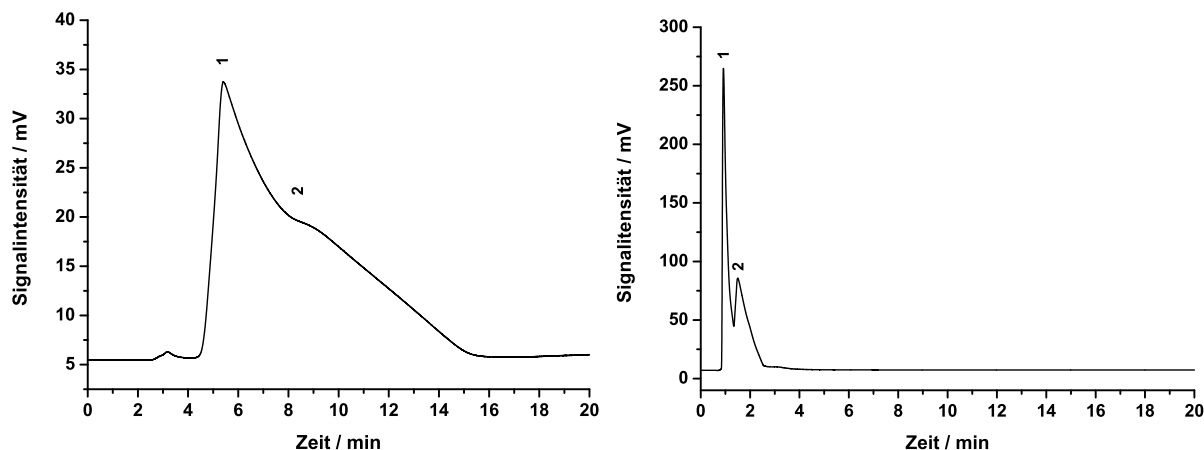


Abbildung 6.52: Trennungen eines Gemisches aus sechs anorganischen Kationen. 1) LiCl, NaCl, KCl, NH<sub>4</sub>Cl, 2) CaCl<sub>2</sub>, MgCl<sub>2</sub>, unter Verwendung der Austauscher **SB2-3-1** (links) und **SB2-4-1** (rechts). Eluent: Reinstwasser, unsuppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

zu erkennen. Die Retentionszeiten liegen auch hier für das Material **SB2-3-1** deutlich höher als für das Material **SB2-4-1**. Aufgrund der höheren Bodenzahlen im rechten Chromatogramm ist die Gruppentrennung für den höherkapazitiven Austauscher jedoch besser aufgelöst und daher besser zu erkennen.

In beiden Fällen kommt es zu einer Auftrennung zwischen den einwertigen Kationen Lithium, Natrium, Kalium und Ammonium sowie den zweiwertigen Erdalkalimetallionen Calcium und Magnesium. Als Gegenion fungiert jeweils Chlorid. Eine Gruppentrennung ist somit grundsätzlich möglich. Verwendet man zudem stark retardierte Anionen als Gegenionen, kann die deutliche Anionenretention zur Darstellung einer vermeintlich guten Kationentrennung herangezogen werden. Dies wurde unter anderem von *Hu* gezeigt, der das spät eluierende Thiocyanat als Gegenion verwendete, um nicht nur eine Gruppentrennung, sondern auch die Trennung dreier Erdalkalimetallionen zu erreichen<sup>[28]</sup>. Der Hauptmechanismus der Trennung beruht jedoch auf der Anionenretention. Durch die hohen Retentionszeiten der Ionenpaare – bedingt durch die Wahl der Anionen – wird die Verweilzeit der Kationen auf der stationären Phase derart erhöht, dass auch für diese eine Trennung beobachtet werden kann. Derart gestellte Trennungen können jedoch lediglich die grundsätzlich vorhandene Fähigkeit der Kationenretention auf Sulfobetain austauschern unter Beweis stellen. Daraus eine Möglichkeit der simultanen Trennung von Anionen und Kationen abzuleiten, ist jedoch nicht legitim.

### 6.6.4 Einfluss der Analytkonzentration auf die Anionentrennung

Des Weiteren stellt sich die Frage, ob die Trennung von Anionen unter Verwendung von Reinstwasser als Eluent tatsächlich eine reproduzierbare und robuste Methode darstellt. Es konnte bereits gezeigt werden, dass die Anionentrennung stark von der Konditionierung der Trennsäulen abhängt. Dies ist solange unproblematisch, solange man durch entsprechende Konditionierung immer wieder einen definierten Zustand der Trennsäulen herstellen kann. Die Retentionszeiten nach der Konditionierung müssten dann ebenfalls definiert sein.

Im Rahmen der hier durchgeführten Untersuchungen kann ein solcher definierter Zustand der Trennsäulen jedoch nicht beobachtet werden. Im Gegenteil wird sogar eine Abhängigkeit der Retentionszeiten von der Analytkonzentration beobachtet. Hierzu werden zwei aufeinanderfolgende Messungen unter Verwendung der Trennsäule **SB2-3-1** durchgeführt. Im Rahmen der ersten Messung werden  $5\ \mu\text{l}$  Anionenstandard mit einer Anionenkonzentration von je  $20\ \text{mg/kg}$  injiziert, in einer zweiten Messung sind es nur je  $8\ \text{mg/kg}$ . Die entsprechenden Chromatogramme sind in Abbildung 6.53 dargestellt.

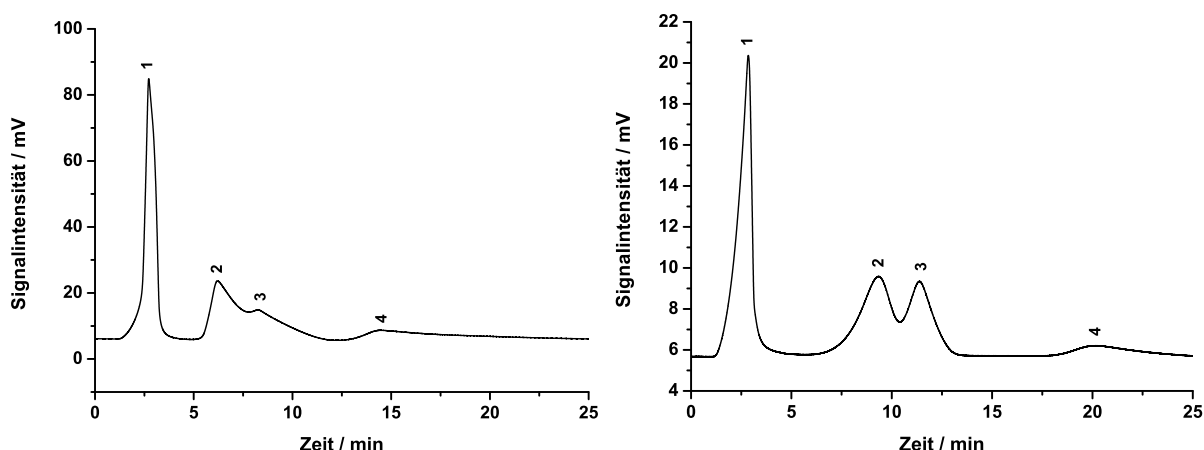


Abbildung 6.53: Abhängigkeit der Anionenretention von der Analytkonzentration, 1) NaF, 2) NaCl, 3) NaNO<sub>2</sub>, 4) NaBr. Trennsäule: **SB2-3-1**, Eluent: Reinstwasser, unsuppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate:  $0,4\ \text{ml/min}$ , Temperatur:  $308\ \text{K}$ , Analytkonzentration: je  $20\ \text{mg/kg}$  (links) und je  $8\ \text{mg/kg}$  (rechts), Probenschleife:  $5\ \mu\text{l}$ , Säulendimension:  $2\ \text{mm} \times 100\ \text{mm}$ .

Zunächst ist der Unterschied in den Signalhöhen auffällig, der durch die verschiedenen Analytkonzentrationen zustande kommt. Diese Abhängigkeit der Signalhöhen bzw. Signalfächen von der Analytkonzentration wird bei allen chromatographischen Methoden für die Quantifizierung ausgenutzt. Was bei anderen Methoden jedoch nicht beobachtet wird, ist eine Verschiebung der Retentionszeiten mit Änderung der Analytkonzentrationen. Beim Vergleich der beiden Chromatogramme fällt allerdings deutlich auf, dass die Retentionszeit für Natriumbromid bei Steigerung

der Analytkonzentration von 20,0 min (rechts) auf etwa 14,7 min (links) abfällt.

Dieser Effekt kann auch nicht auf eine Überladung der Trennsäule zurückgeführt werden, denn eine weitere Erniedrigung der Analytkonzentration führt auch zu einer weiteren Steigerung der Retentionszeiten. Zudem sind keine typischen Überladungseffekte zu beobachten. Es kann also festgestellt werden, dass die Retentionszeiten mit steigender Analytkonzentration fallen. Vermutet wird, dass der Grund hierfür in der lokalen, kurzfristigen Ausbildung einer hantelförmigen Ladungswolke (EDL) begründet liegt. Mit Blick auf die mechanistischen Überlegungen zur ZIC sollte die Ausbildung der EDL zwar grundsätzlich die Zugänglichkeit der Anionenaustauscherfunktion erhöhen, dies gilt jedoch streng genommen nur für ein System im Gleichgewicht, dem regelmäßig Elutionen zugeführt werden. Die tatsächlich auf der stationären Phase ablaufenden Prozesse, die zu dem beobachteten Verhalten führen könnten, entziehen sich jedoch jeglichen analytischen Untersuchungsmethoden. Möglicherweise könnten hierbei Trennungen unter Verwendung von Eluenten mit Elutionen nähere Aufschlüsse liefern.

Grundsätzlich ist jedoch anzumerken, dass ähnliche Abhängigkeiten der Retentionsfaktoren von der Analytkonzentration bereits literaturbekannt sind<sup>[28]</sup>. Dies ist auch der Grund dafür, dass ZIC-Trennungen mit Reinstwassereluenten hauptsächlich für die Anionenbestimmung in hochsalinen Proben herangezogen wurden<sup>[59][145][26]</sup>. In diesen Proben ist die Gesamtionenstärke so hoch, dass Änderungen in der Analytkonzentration keinen nennenswerten Einfluss auf die Retentionszeiten mehr haben. Eine weitere Möglichkeit, die Problematik der sich ändernden Retentionszeiten zu umgehen, ist der Zusatz eines nur schwach leitfähigen Eluent-Puffers. Zum Einsatz kommen ampholytische Substanzen wie Aminosäuren oder 2-Morpholinoethansulfonsäure<sup>[146]</sup>.

Im Rahmen dieser Arbeit soll jedoch nicht der Einsatz exotischer Puffersysteme für die Optimierung problematischer Trennungen untersucht werden, sondern die Abhängigkeit verschiedener Trennmechanismen von dem Abstand zwischen den Ladungen der hergestellten zwitterionischen Austauscher. Die ZIC mit Reinstwasser als Eluent stellt dabei eine zu störungsanfällige und zudem unvariable Methode dar. Da die Verwendung von Reinstwasser keinerlei Einflussnahme auf die mobile Phase zulässt, können auch keine systematischen Eluentvariationen durchgeführt werden, die jedoch dringend benötigt werden, um Mechanismen und Eigenschaften der stationären Phasen genauer beleuchten zu können. Aus diesen Gründen sollen im weiteren Verlauf der Arbeit Trennungen unter Verwendung von Eluenten mit Elutionen durchgeführt werden.



## 6.7 Chromatographische Charakterisierung unter ZIC-Bedingungen

Die Verwendung von Eluenten mit Elutionen ermöglicht eine vielfältige Einflussnahme auf die zu untersuchenden Trennungen. Neben der grundsätzlichen Wahl und Variation der verwendeten Salze bzw. Puffersysteme, können unterschiedliche Elutionenstärken und Eluent-pH-Werte eingesetzt werden. Über diese Faktoren sollten sich im Rahmen der ZIC die binäre elektrische Doppelschicht sowie die sich bildenden *Donnan*-Membranen beeinflussen lassen. Dies wiederum führt erwartungsgemäß zu deutlichen Änderungen im Retentionsverhalten.

Über die Reaktion der Austauschermaterialien auf diese Änderungen können – in Abhängigkeit der Abstände zwischen den Ladungen – Rückschlüsse auf die Eigenschaften der Austauschergruppen sowie auf die zugrundeliegenden Mechanismen gezogen werden. Eine Pufferung der Eluentensysteme kann – insbesondere im Hinblick auf spätere Trennungen von Aminosäuren – ebenfalls wünschenswert sein.

### 6.7.1 Vorversuche mit 2 mm-Trennsäulen

Noch vor der Untersuchung an der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher vergleichbarer Kapazitäten, werden Voruntersuchungen an den anfänglich hergestellten Trennsäulen der Dimension  $2\text{ mm} \times 100\text{ mm}$  durchgeführt. Diese dienen in erster Linie einer generellen Abklärung, für welche Trennungen sich die hergestellten zwitterionischen Materialien eignen und welche groben Trennbedingungen hierfür gewählt werden sollten.

#### 6.7.1.1 Vorversuche unter Verwendung eines Natriumsulfat-Eluenten

Anhand der unter Punkt 6.6.1 dargestellten Untersuchungen konnte bereits gezeigt werden, dass die hergestellten zwitterionischen Materialien sich generell für die Trennung anorganischer Anionen eignen. Da jedoch beobachtet wurde, dass mit dieser chromatographischen Methode keine reproduzierbaren Ergebnisse erzielt werden können, werden im weiteren Verlauf der Arbeit unterschiedliche Eluentzusätze auf ihren Einsatz in der ZIC hin untersucht. Zunächst werden Trennungen unter Verwendung von Natriumsulfat-Eluenten durchgeführt. Erste Ergebnisse dieser Untersuchungen wurden bereits unter Punkt 6.5.1.4 in Abbildung 6.36 gezeigt.

Im Rahmen dieser Messungen wurde versucht, Kapazitäten der Austauscher über die Retentionszeiten von Anionen anzunähern. Es wurde mit einem Natriumsulfat-Eluenten der Konzentration  $200\text{ mmol/l}$  gearbeitet, als Analyten kamen UV-aktive Anionen als Natriumionenpaare

zum Einsatz. Bereits diese Abbildung zeigte deutlich, dass mit allen hergestellten Austauschern grundsätzlich eine Retention von Anionen möglich ist. So liegt der Retentionsfaktor für Thiocyanat selbst beim schlechtest geeigneten Austauscher (**SB5-1-1**) bei etwa sieben. Alle übrigen Austauscher zeigen Retentionsfaktoren von etwa zehn bis 145 für Thiocyanat.

Eine Gesamtionenstärke von 200 mmol/l ist für chromatographische Messungen – selbst unter ZIC-Bedingungen – jedoch bereits sehr hoch. Aus diesem Grund soll im Rahmen eines weiteren Experiments untersucht werden, wie und inwieweit die Retentionsfaktoren von der Elutionenstärke abhängen. Diese Untersuchung wird am Sulfobetaineaustauscher **SB4-2-1** durchgeführt und soll dazu dienen, den für ZIC-Trennungen sinnvollen Ionenstärkebereich abzuschätzen. Die Sulfatkonzentration wird stufenweise von 0 mmol/l auf 200 mmol/l gesteigert. Die sich ergebenden Auftragungen für die Ionenpaare NaBr, NaI sowie NaSCN sind in Abbildung 6.54 dargestellt.

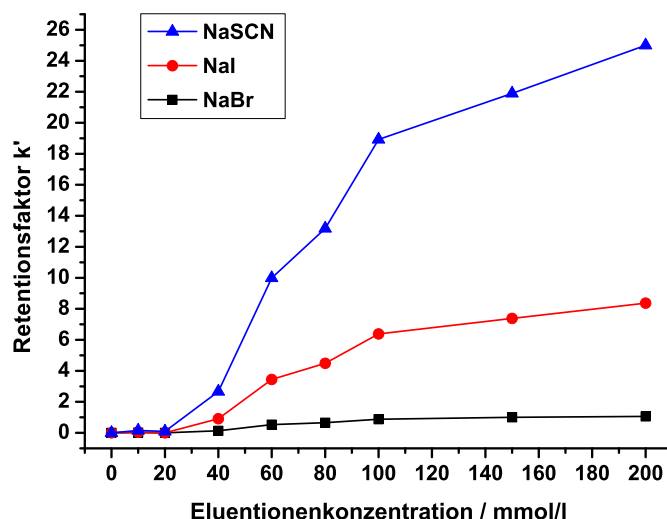


Abbildung 6.54: Retentionsfaktoren von drei anorganischen Ionenpaaren. Trennsäule: **SB4-2-1**, Eluent: Natriumsulfat, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Bei niedrigen Ionenstärken ist mit diesem Austauscher – analog wie unter Punkt 6.6.1 bereits beschrieben – keine Trennung der Ionenpaare möglich. Deutlich zu erkennen ist jedoch ein beginnender Anstieg der Retentionsfaktoren ab einer Elutionenstärke zwischen 20 mmol/l und 40 mmol/l. Analog zu den Ergebnissen von *Hu*<sup>[28]</sup>, kommt es zunächst zu einem drastischen Anstieg der Retentionsfaktoren. Bei den literaturbekannten dynamisch belegten Austauschern erfolgt dieser Anstieg jedoch schon bei sehr geringen Ionenstärken und ist bereits bei Elutionenkonzentrationen von etwa 2 mmol/l bis 5 mmol/l (ebenfalls mit Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>-Eluenten) abgeschlossen. Ab einer Ionenstärke von 100 mmol/l ist für alle Analyten ein Abflachen der Kurven zu beobachten. Dieses Abflachen resultiert aus der fortschreitenden Ausbildung der EDL.

Bei vollständig ausgebildeter hantelförmiger Ladungswolke bewirkt eine weitere Steigerung der Elutionenstärke keine Veränderung der Retentionsfaktoren mehr. Dieser Punkt ist bei dem untersuchten **SB4-2-1**-Austauscher jedoch selbst bei 200 mmol/l noch nicht erreicht.

Der Sulfat-Eluent ist somit grundsätzlich geeignet, eine Anionenretention hervorzurufen. Bei dieser Eluent/Trennsäulen-Kombination kann das für zwitterionische Austauschermaterialien typische Verhalten beobachtet werden.

Neben dem Einfluss der Ionenstärke können anhand der durchgeführten Messungen auch erste Erkenntnisse bezüglich der Geschwindigkeit der Gleichgewichtseinstellung zwischen mobiler und stationärer Phase gewonnen werden. So werden nach Wechsel der Elutionenstärke von 60 mmol/l auf 80 mmol/l wiederholte Trennungen der Ionenpaargemische durchgeführt. Die erste Messung erfolgt 0,5 Stunden nach dem Umschalten und es werden bis neun Stunden nach dem Eluentwechsel immer wieder Proben injiziert. Die Auftragung der Retentionsfaktoren für NaSCN gegen die Zeit seit Eluentwechsel ist in Abbildung 6.55 dargestellt.

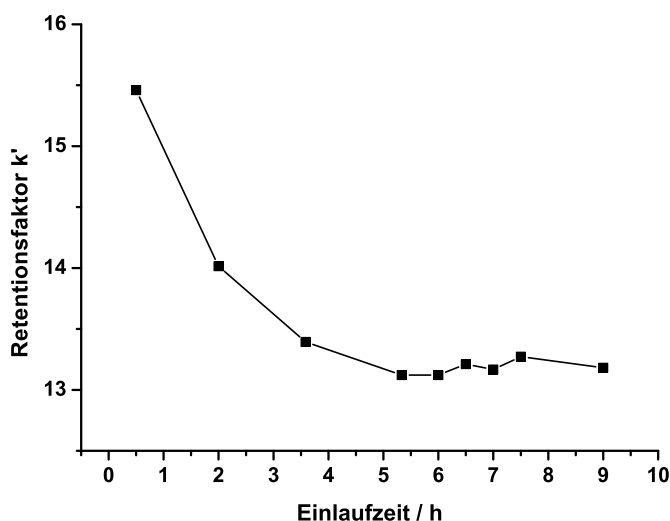


Abbildung 6.55: Abhängigkeit der Retentionsfaktoren des Natriumthiocyanats von der Messzeit nach Wechsel auf einen höherkonzentrierten Eluenten. Trennsäule: **SB4-2-1**, Eluent: Natriumsulfat, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Direkt nach dem Wechsel auf einen höherkonzentrierten Eluenten stellen sich zunächst recht hohe Retentionsfaktoren ein. Die Graphen für die anderen untersuchten Analytionen sind vergleichbar. Die nach Äquilibration tatsächlich durch die Erhöhung der Ionenstärke erreichte Steigerung der Retentionsfaktoren – wie sie in Abbildung 6.55 im Bereich von fünf bis neun Stunden nach Eluentwechsel gezeigt ist – liegt jedoch deutlich niedriger. Die Retentionsfaktoren für Natriumthiocyanat nehmen von 0,5 Stunden nach dem Eluentwechsel bis hin zu fünf

Stunden nach dem Wechsel von 15,5 auf 13,2 ab. Dies entspricht einer Verringerung um etwa 15%. Nach fünf Stunden stellt sich eine konstante Retentionszeit ein. Ein Eluentwechsel benötigt bei Verwendung von zwitterionischen Austauschermaterialien somit lange Äquilibrationszeiten. Besonders für niedriger konzentrierte Eluenten, aber auch für den Wechsel von höheren auf niedrigere Eluentenstärken, muss eher noch mit längeren Äquilibrationszeiten gerechnet werden. Dies sollte für alle weiteren durchgeführten Untersuchungen beachtet werden.

Der Natriumsulfat-Eluent ist somit zwar grundsätzlich für die Trennung von Anionen geeignet, ermöglicht aber aufgrund der hohen Eigenleitfähigkeit bei nicht vorhandener Suppressierbarkeit lediglich die UV-Detektion UV-aktiver Analytionen. Auf komplexe und teure Detektionsmöglichkeiten wie die ICP-MS-Detektion soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden. Ein Umstieg auf einen suppressierbaren Eluenten unter Verwendung der Leitfähigkeitsdetektion wäre demnach wünschenswert. Das damit einsetzbare Natriumcarbonat/-hydrogencarbonat-Eluentensystem bietet zudem eine Pufferwirkung. Diese ist – wie bereits genannt – besonders für ampholytische Analyten wie Aminosäuren erforderlich.

#### 6.7.1.2 Vorversuche unter Verwendung von Carbonat-Eluenten

Es wird daher untersucht, ob Carbonat/Hydrogencarbonat-Eluenten mit suppressierter Leitfähigkeitsdetektion für die Anionentrennung auf den hergestellten zwitterionischen Austauschern eingesetzt werden können. Auch für diese Vorversuche wird die Trennsäule **SB2-3-1** herangezogen, da diese in Bezug auf Anionentrennungen bislang die besten Ergebnisse geliefert hat. Sollten Anionentrennungen unter Verwendung von Natriumcarbonat/-hydrogencarbonat-Eluenten möglich sein, kann dies am ehesten mit diesem Austauscher gezeigt werden.

Zunächst wird ein Natriumcarbonat/-hydrogencarbonat-Eluent der Konzentration 20 mmol/l eingesetzt, der durch Lösen von Natriumhydrogencarbonat in Wasser hergestellt wird. Der pH-Wert dieses Eluenten wird mithilfe von Natronlauge unter Einsatz eines pH-Meters (Fa. Metrohm AG, Herisau, Schweiz) willkürlich auf 9,00 eingestellt. Üblicherweise werden in der Anionenaustauschchromatographie reine Carbonat-Eluenten eingesetzt, deren pH-Werte entsprechend oberhalb des  $pK_S$ -Wertes des Systems  $\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{2-}$  von 10,40<sup>[147]</sup> liegen. Um den Einfluss des Eluent-pH auf die Anionentrennung abschätzen zu können, wird zudem ein reiner Hydrogencarbonat-Eluent der Konzentration 20 mmol/l eingesetzt. Dieser wird durch Lösen von Natriumhydrogencarbonat in Wasser ohne pH-Wert Anpassung hergestellt. Die Überprüfung mittels pH-Meter liefert einen Wert von 7,00. Die Chromatogramme für die Trennung anorganischer Anionen sind für beide pH-Werte in Abbildung 6.56 gegenübergestellt.

Eine Retention der Anionen wird unter beiden Bedingungen mit den gewählten Eluenten erreicht. Auch die Peaksymmetrien – z. B. für Natriumiodid – sind akzeptabel. Dennoch bestehen

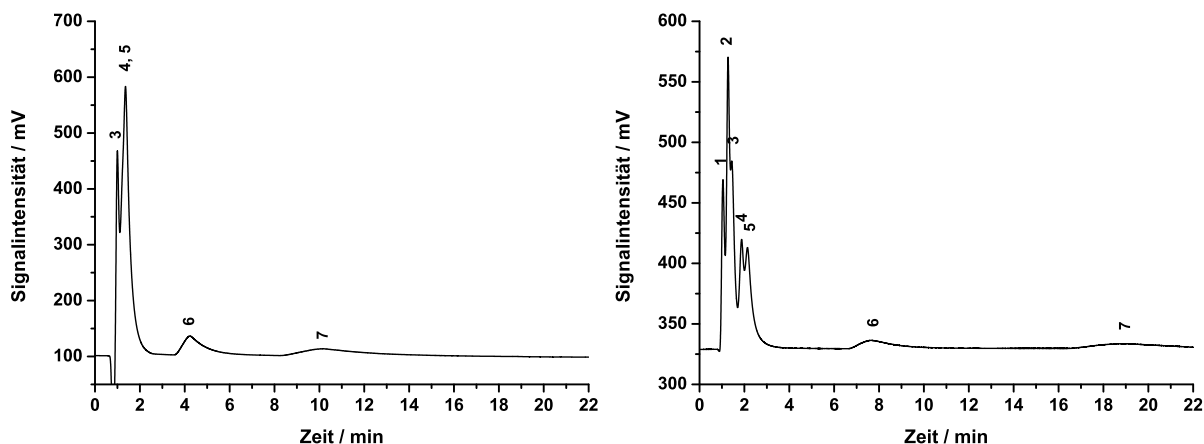


Abbildung 6.56: Trennungen eines Anionengemisches bestehend aus 1) NaF, 2) NaCl, 3)  $\text{NaNO}_2$ , 4) NaBr, 5)  $\text{NaNO}_3$ , 6) NaI und 7) NaSCN. Trennsäule: **SB2-3-1**, Eluent: 20 mmol/l Natriumcarbonat/-hydrogencarbonat, pH 9,00 (links) und pH 7,00 (rechts), suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

in Abhängigkeit des Eluent-pH-Werts deutliche Unterschiede im Trennverhalten. So bewirkt eine Absenkung des pH-Wertes von 9,00 auf 7,00 zwar noch keine Basislinientrennung aller Analytanionen, dennoch nehmen die Retentionszeiten drastisch zu. Während Iodid bei pH 9,00 nach 4,1 min eluiert und Thiocyanat nach etwa 10,0 min, steigen die Retentionszeiten bei pH 7,00 auf fast das Doppelte an. Der Austauscher **SB2-3-1** zeigt also bei niedrigeren pH-Werten deutlich verbesserte Trennleistungen. Eine weitere Steigerung des pH-Werts – auf einen für die Anionenaustauschchromatographie üblichen reinen Carbonat-Eluenten mit pH-Werten oberhalb von 10,40 – verschlechtert die Trennleistung hingegen erheblich.

Für eine weitere Verbesserung der Anionentrennung wäre somit eine weitere Absenkung des Eluent-pH-Werts wünschenswert. Diesbezüglich unterliegen Carbonat-Eluenten jedoch gewissen Einschränkungen. So liegt der  $\text{pK}_\text{S}$ -Wert des  $\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-$ -Paares bei 6,52. Aufgrund der Unbeständigkeit von Kohlensäure in wässrigem Milieu – mit Zerfall zu  $\text{CO}_2$  und Wasser – sind pH-Werte unter 7,00 somit nicht realisierbar.

Aus diesem Grund wird untersucht, ob die Anionentrennung durch Variation der Elutionenstärke weiter verbessert werden kann. Im Rahmen der klassischen Anionenaustauschchromatographie führt eine Reduktion der Elutionenkonzentration zu einer Erhöhung der Retentionszeiten. In der ZIC verhält es sich – der bisherigen Theorie folgend<sup>[28]</sup> – bis zum Erreichen einer maximalen Retentionszeit gerade umgekehrt. Um erste Einblicke in die Trennmechanismen zu erlangen, werden daher sowohl niedriger konzentrierte, als auch höher konzentrierte Eluenten eingesetzt. In Abbildung 6.57 sind die Retentionsfaktoren gegen die Elutionenkonzentration

nen aufgetragen.

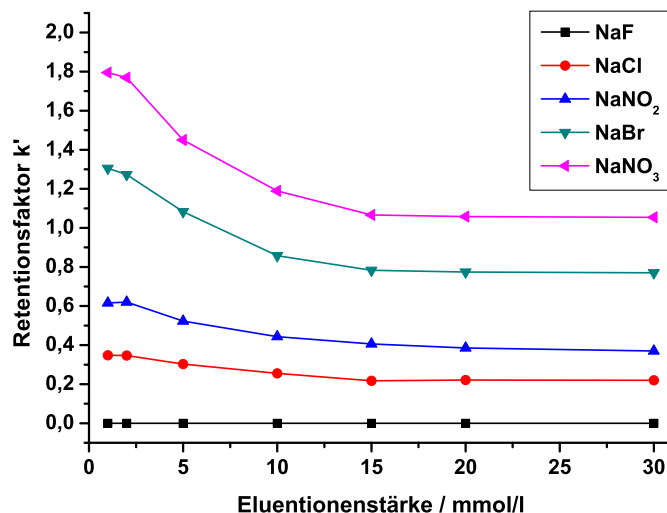


Abbildung 6.57: Abhängigkeit der Retentionsfaktoren einiger Anionen von der Ionenstärke des Natriumhydrogencarbonat-Eluenten, Eluent:  $\text{NaHCO}_3$ , pH 7,00, suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Der experimentell ermittelte Kurvenverlauf für diesen Austauscher spiegelt keine der beiden genannten Mechanismen wieder. Zwar kommt es bei Reduktion der Elutionenstärke zunächst zu einem Anstieg der Retentionsfaktoren, bei sehr niedrigen Elutionenkonzentrationen flacht die Kurve jedoch wieder ab. Eine doppeltlogarithmische Auftragung liefert keinen linearen Zusammenhang. Es ist aber auch keine – für die ZIC erwartete – Steigerung der Retentionsfaktoren mit Erhöhung der Elutionenstärke zu beobachten. Die Mechanismen der Trennung müssen in diesem Stadium der Arbeit also als ungeklärt betrachtet werden.

Für das aktuelle Trennproblem bieten sich aus den gezeigten Untersuchungen aber dennoch Möglichkeiten zur Optimierung. So führt eine Absenkung der Elutionenkonzentration von 20 mmol/l auf 2 mmol/l bei einem pH-Wert von 7,00 zu einer deutlichen Erhöhung der Retentionsfaktoren. Mit diesem Eluenten ist die in Abbildung 6.58 gezeigte Trennung von sieben Anionen möglich.

Zwar ist auch unter diesen Bedingungen noch keine Basislinientrennung aller Analyten zu erreichen, das Potential zwitterionischer Austauscher in Bezug auf die Trennung anorganischer Anionen unter rein wässrigen Bedingungen kann jedoch bereits erahnt werden. Besonders anzumerken ist bei dieser Trennung, dass – im Gegensatz zu den Messungen mit Reinstwasser als Eluent – unter Verwendung von Elutionen keine Abhängigkeit der Retentionszeiten von der Analytenkonzentration beobachtet werden kann. Wenn die Anionentrennung auch noch nicht optimal ist, kann nun zumindest von einer reproduzierbaren chromatographischen Methode ge-

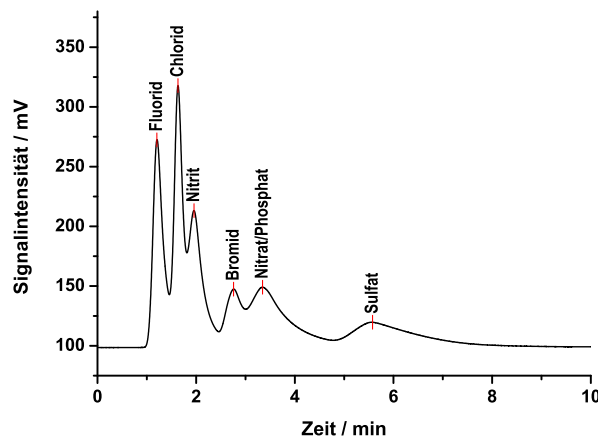


Abbildung 6.58: Trennung eines Anionengemisches aus NaF, NaCl, NaNO<sub>2</sub>, NaBr, NaNO<sub>3</sub>, NaHPO<sub>4</sub> sowie Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Eluent: 2 mmol/l NaHCO<sub>3</sub>, pH 7,00, suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5 µl, Säulendimension: 2 mm × 100 mm.

sprochen werden, die sowohl über die Retentionszeiten qualitative als auch über die Peakflächen quantitative Informationen über die Analyten liefert.

Neben dem Einsatz von Carbonat-Eluenten könnte eine weitere Absenkung des Eluent-pH-Wertes zu einer Verbesserung der Anionentrennung führen.

### 6.7.1.3 Vorversuche unter Verwendung von Acetat-Eluenten

Natriumacetat-Eluenten können vom pH-Wert her unproblematisch in den Bereich von 3,00 gebracht werden und liefern dabei noch ausreichende Puffereigenschaften. Ein entscheidender Nachteil bei der Verwendung von Acetat-Eluenten im Gegensatz zu Carbonat-Eluenten liegt jedoch in der mangelnden Suppressierbarkeit. Die Leitfähigkeitsmessung scheidet daher als Detektionsprinzip aus.

Im Rahmen von ZIC-HILIC-Trennungen werden Natriumacetat- oder Ammoniumacetat-Eluenten jedoch regelmäßig eingesetzt. Acetat-Eluenten eignen sich unter anderem für den Einsatz mit der UV/VIS-Detektion. Diese Detektionsmethode kann grundsätzlich – wie bereits im Rahmen der Vorversuche mit Natriumsulfateluents gezeigt – auch für die Bestimmung UV-aktiver Anionen eingesetzt werden. Die Zahl der untersuchbaren Analytionen wird dadurch zwar im Vergleich zur Leitfähigkeitsdetektion verringert, verglichen mit der Trennung unter Verwendung des Natriumsulfat-Eluenten wird jedoch die Möglichkeit der pH-Kontrolle gewonnen.

Besonders mit Blick auf die später durchzuführenden Untersuchungen der Trennmechanismen anhand der Charakterisierung der homologen Reihe von Sulfobetain austauschern, ist ein möglichst breiter Variationsspielraum des Eluenten sinnvoll. Es werden daher Voruntersuchungen

zur Trennung UV-aktiver Anionen unter Verwendung von Natriumacetat-Eluenten durchgeführt. Auch hierfür wird das Material **SB2-3-1** eingesetzt, da somit auch eine gute Vergleichbarkeit zu den Ergebnissen der übrigen Vorversuche möglich ist.

Trennungen sind z. B. mit Acetat-Eluenten der Konzentration 20 mmol/l bei pH-Werten von 7,7 und 4,75 möglich. Die Chromatogramme der beiden Eluent-pH-Werte sind in Abbildung 6.59 gegenübergestellt.

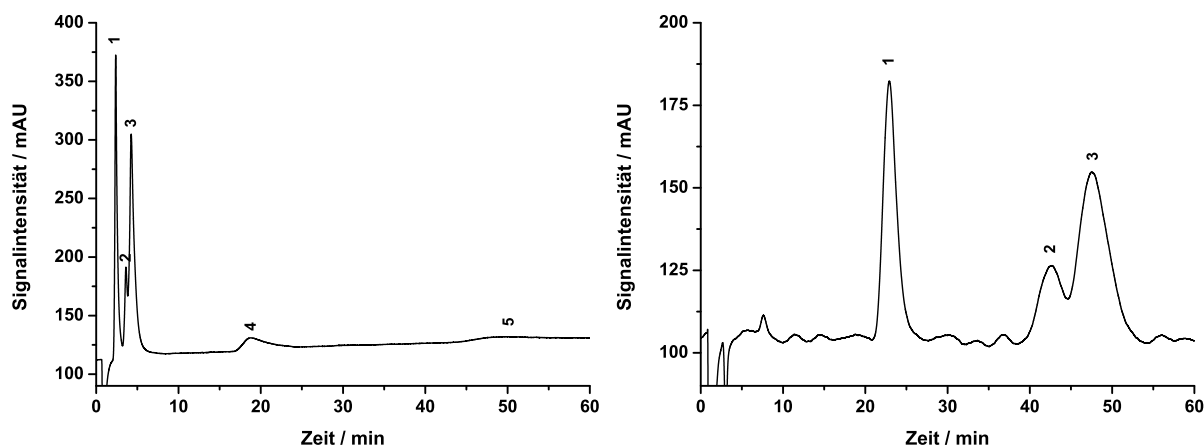


Abbildung 6.59: Trennungen eines Anionengemisches bestehend aus 1)  $\text{NaNO}_2$ , 2)  $\text{NaBr}$ , 3)  $\text{NaNO}_3$ , 4)  $\text{NaI}$  und 5)  $\text{NaSCN}$ . Trennsäule: **SB2-3-1**, Eluent: 20 mmol/l Natriumacetat, pH 7,70 (links) und pH 4,75 (rechts), UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Auch die Acetat-Eluenten ermöglichen – analog zu den Ergebnissen der Carbonat-Eluenten – Retention für alle untersuchten Anionen mit akzeptablen Peakformen. Ebenfalls in Analogie zu den bereits gezeigten Trennungen, ist auch mit den Acetat-Eluenten eine Abhängigkeit der Retentionsfaktoren von den pH-Werten erkennbar. Das linke Chromatogramm in Abbildung 6.59 liegt mit einem pH-Wert von 7,7 in einem ähnlichen Bereich, wie das rechte Chromatogramm in Abbildung 6.56, welches mit einem Carbonat-Eluenten bei einem pH-Wert von 7,00 gemessen wurde. Vergleicht man in diesen Chromatogrammen z. B. die Retentionszeiten von Natriumiodid (7,8 min mit Carbonat-Eluent, 19,3 min mit Acetat-Eluent) fällt auf, dass der Acetat-Eluent bei gleicher Ionenstärke – Protonierungsgrad nicht mitberücksichtigt – und sogar höherem pH-Wert, nochmals deutlich höhere Retentionszeiten erzielt.

Diese hohen Retentionszeiten können durch Reduktion des pH-Werts des Acetat-Eluenten nochmals drastisch gesteigert werden. So zeigt das rechte Chromatogramm in Abbildung 6.59, welches bei einem pH-Wert von 4,75 gemessen wurde, z. B. für Nitrat eine Retentionszeit von 47,7 min während bei einem pH-Wert von 7,7 nur knapp 4,3 min erreicht wurden. Unter Verwendung eines Natriumacetat-Eluenten zeigt das Material **SB2-3-1** also ebenfalls eine ausge-



prägte pH-Abhängigkeit der Retentionsfaktoren mit steigenden Retentionszeiten bei höheren  $H^+$ -Konzentrationen.

Grundsätzlich müssen Anionentrennungen auf zwitterionischen Austauschern bei der Verwendung von Natriumacetat-Eluenten aufgrund der Detektionsmethode also mit dem Nachteil der deutlich reduzierten Menge an potentiellen Analyten auskommen. Eine bessere Eluent/Detektor-Kombination ist bei den geforderten niedrigen pH-Werten jedoch auch nicht denkbar (MS-Detektion wiederum ausgenommen). Gerade bei niedrigen pH-Werten ist jedoch die Anionenretention hervorragend. Unter derartigen Messbedingungen scheint auch die systematische Untersuchung der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher mit vergleichbaren Kapazitäten sinnvoll zu sein.

### 6.7.2 Anionentrennung

Systematische Untersuchungen zur Anionentrennung mit der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher werden demnach unter Einsatz von Natriumacetat-Eluenten in Kombination mit der UV-Detektion durchgeführt. Als mögliche Variationen in der Eluentzusammensetzung können die Elutionenstärke und der Eluent-pH-Wert betrachtet werden.

Die Untersuchung der Einflüsse dieser Eluent-Variationen auf die Anionentrennung – in Abhängigkeit von den Abständen zwischen den geladenen funktionellen Gruppen – sollte Aufschlüsse über die Eigenschaften der einzelnen stationären Phasen und somit über die ablaufenden Prozesse und Trennmechanismen geben.

Zur Erklärung der beobachtbaren Ergebnisse werden neben den bisher literaturbekannten Theorien zur ZIC (siehe Punkt 2.5.1) auch die im Rahmen dieser Arbeit erlangten Erkenntnisse, z. B. in Bezug auf die Ionomerpolaritäten (siehe Punkt 6.2.4), herangezogen.

Zunächst werden Untersuchungen unter Verwendung des im Rahmen der Voruntersuchungen bereits eingesetzten Natriumacetat-Eluenten der Konzentration 20 mmol/l bei einem pH-Wert von 4,75 durchgeführt. Als stationäre Phasen werden die Austauschermaterialien **SB1-5**, **SB2-11**, **SB3-26**, **SB4-8** und **SB5-4** eingesetzt. Im weiteren Verlauf der Arbeit entfallen die Ansatzkürzel bei Messung der homologen Reihe zur Vereinfachung. Es wird nur noch von den Sulfobetaintrennsäulen **SB1** bis **SB5** die Rede sein. Sofern Untersuchungen mit 2 mm-Trennsäulen durchgeführt werden, sollen die Ansatzkürzel jedoch auch weiterhin angegeben werden. Zum Vergleich mit kommerziellen zwitterionischen Austauschern werden alle Untersuchungen zusätzlich mit den Trennsäulen ZIC-HILIC und ZIC-PHILIC (Fa. SeQuant/Merck, Darmstadt, Deutschland) als Benchmark durchgeführt. Diese kommerziellen Austauscher tragen – wie bereits unter Punkt 3.2.2 dargestellt – die gleichen funktionellen Gruppen wie das Material **SB3**.

Sie werden in der Dimension  $4,6\text{ mm} \times 100\text{ mm}$  eingesetzt, weisen also einen etwas größeren Innendurchmesser als die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten  $4\text{ mm}$ -Trennsäulen auf. Das Innenvolumen der kommerziellen Austauscher ist demnach um etwa 15% größer, ebenso wie der Inhalt an stationärer Phase. Zudem liegen die Gesamtkapazitäten um etwa ein Drittel höher als die Kapazitäten der homologen Reihe. Dies muss beim Vergleich der Trennsäulen untereinander berücksichtigt werden.

Unter Verwendung des genannten Natriumacetat-Eluenten mit UV-Detektion sind die in Abbildung 6.60 zusammengefassten chromatographischen Trennungen UV-aktiver Anionen möglich. Die chromatographischen Bedingungen wurden bei allen Bestimmungen gleich gehalten.

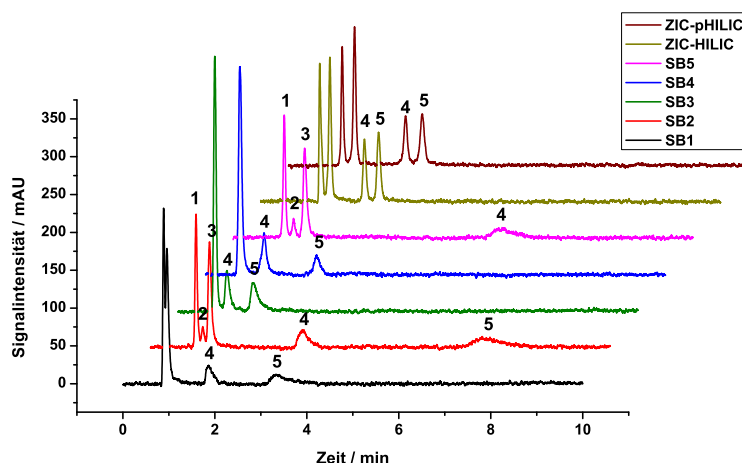


Abbildung 6.60: Trennung eines Anionengemisches bestehend aus 1)  $\text{NaNO}_2$ , 2)  $\text{NaBr}$ , 3)  $\text{NaNO}_3$ , 4)  $\text{NaI}$  und 5)  $\text{NaSCN}$ , Eluent:  $20\text{ mmol/l}$  Natriumacetat,  $\text{pH } 4,75$ , UV-Detektion bei  $210\text{ nm}$ , Flussrate:  $1,0\text{ ml/min}$ , Temperatur:  $318\text{ K}$ , Analytkonzentration:  $20\text{ mg/kg}$ , Probenschleife:  $20\text{ }\mu\text{l}$ , Säulendimension:  $4\text{ mm} \times 100\text{ mm}$  ( $4,6\text{ mm} \times 100\text{ mm}$  für die kommerziellen Austauscher).

Zunächst kann festgestellt werden, dass für alle Austauscher zumindest eine Antrennung der untersuchten Anionen stattfindet. Ein gewisses Maß an Retention ist also mit allen hergestellten, ebenso wie mit den kommerziellen Materialien zu erreichen. Gleichzeitig wird aber auch klar, dass es zwischen den unterschiedlichen stationären Phasen in Abhängigkeit des Grundmaterials (ZIC-HILIC auf Kieselgelbasis, ZIC-pHILIC auf Methacrylatbasis, **SB1** bis **SB5** mit PS/DVB-Grundkörpern) und insbesondere in Abhängigkeit der Abstände zwischen den Ladungen zu deutlichen Unterschieden in den Trennverhalten kommt.

So zeigen die kommerziellen Austauscher z. B. eine Auftrennung von vier Signalen, wobei der erste und zweite Analyt – Nitrat und Bromid – im ersten Peak coeluieren. Das eigentlich ver-

gleichbare Material **SB3** hingegen trennt nur drei Signale auf, wobei die Analyten 1 bis 3 im ersten Peak coeluieren. Der Austauscher **SB3** stellt damit auch das Material mit den schlechtesten Trenneigenschaften für anorganische Anionen unter der homologen Reihe an Austauschern dar.

Mit anderen Ladungsabständen sind jedoch auch Basislinientrennungen aller Analyten möglich. So zeigt z. B. das Material **SB2** eine Auftrennung aller fünf Analyten innerhalb von 8 min. Noch höhere Retentionszeiten werden mit dem Austauscher **SB5** erreicht. Bei diesem eluiert Thiocyanat (Analyt 5) nicht mehr abgebildet bei 15 min.

Ein besserer Überblick über die Abhängigkeit des Retentionsverhaltens von den Abständen zwischen den Ladungen erhält man bei Auftragung der Retentionsfaktoren gegen die Ladungsabstände. Dies ist in Abbildung 6.61 gezeigt.

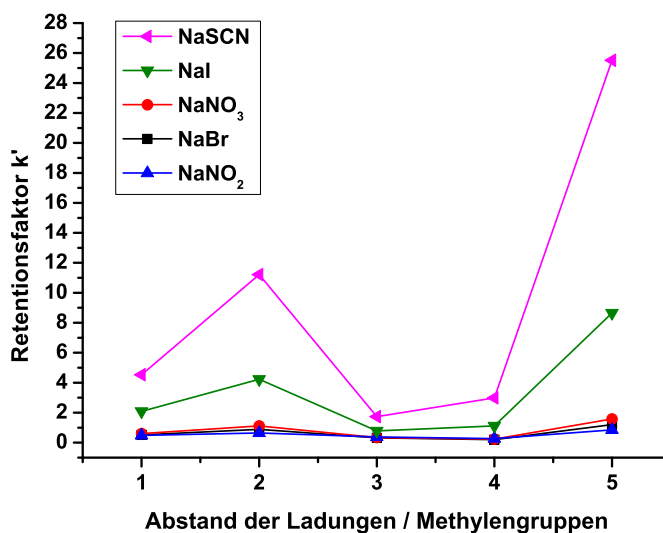


Abbildung 6.61: Abhängigkeit der Anionentrennung von den Abständen zwischen den geladenen funktionellen Gruppen. Eluent: 20 mmol/l Natriumacetat, pH 4,75, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm.

Entgegen der Erwartung ist hier kein klarer Trend zu erkennen. Es kann keine einfache Funktion gefunden werden, die diese Zusammenhänge ausdrücken würde. Festgestellt werden kann jedoch, dass die Materialien **SB2** und **SB5** innerhalb der homologen Reihe aus bislang nicht geklärten Gründen außergewöhnlich gut für die Trennung von Anionen geeignet sind.

Um der Klärung dieser Frage näher zu kommen, werden systematische Variationen der Eluent-Zusammensetzung durchgeführt, um deren Einfluss auf die Anionentrennungen zu untersuchen. Da an dynamisch belegten zwitterionischen Austauschern mit C3-Abstand bereits umfangreiche

Untersuchungen bezüglich des Einflusses der Elutionenstärke gemacht wurden<sup>[28]</sup>, soll auch im Rahmen dieser Arbeit mit der Variation der Eluentkonzentration begonnen werden.

#### 6.7.2.1 Variation der Elutionenstärke

Als erste Variation wird somit die Elutionenstärke im Bereich von 10 mmol/l bis 40 mmol/l verändert. Wie bereits beschrieben, sollten solche Änderungen im Rahmen klassischer IC-Experimente zu sinkenden Retentionsfaktoren mit steigenden Ionenstärken führen. Im Rahmen der ZIC sollte es zu einem starken Anstieg der Retentionsfaktoren mit steigender Elutionenstärke kommen, der sein Ende in einer asymptotischen Annäherung an einen Maximalwert findet. Diese Beobachtung geht – der bisherigen Theorie<sup>[28]</sup> folgend – mit der Ausbildung der binären elektrischen Doppelschicht (EDL) einher.

In Abbildung 6.62 sind die Auftragungen der Retentionsfaktoren gegen die Elutionenstärken für alle fünf stationären Phasen der homologen Reihe, sowie für die beiden kommerziellen Austauscher, zusammengefasst.

Betrachtet man die sieben Auftragungen zunächst im Überblick, fallen für einige Austauscher gewisse Ähnlichkeiten ins Auge. So verhalten sich die Materialien **SB1**, **SB5** und die kommerziellen Austauscher ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC recht ähnlich. Alle vier zeigen einen Anstieg der Retentionsfaktoren mit steigender Elutionenstärke, der ab Elutionenkonzentrationen von etwa 20 mmol/l bis 30 mmol/l abflacht. Zudem liegen die Absolutwerte der Retentionsfaktoren beim Material **SB1** sowie den kommerziellen Austauschern auf einem vergleichbaren Niveau. Der Austauscher **SB5** liefert – wie bereits aus Abbildung 6.61 ersichtlich wurde – deutlich höhere Retentionsfaktoren, bei qualitativ vergleichbarem Kurvenverlauf.

Besonders gut ist der Kurvenverlauf dieser stationären Phasen am Beispiel des ZIC-HILIC-Materials zu erkennen. Dessen Auftragung zeigt genau die zuvor angesprochene asymptotische Annäherung an einen Maximalwert der Retentionsfaktoren. Die fortschreitende Ausbildung der EDL kann also zur Erklärung dieser Beobachtungen herangezogen werden. Die Zugänglichkeit der Anionenaustauscherfunktionen steigt mit zunehmender Ausbildung der EDL. Im Bereich einer Elutionenstärke von etwa 60 mmol/l ist die EDL des ZIC-HILIC-Austauschers vollständig ausgebildet. Eine weitere Erhöhung der Elutionenstärke bewirkt ab diesem Punkt keine Veränderung der Retentionsfaktoren mehr.

Neben den Ähnlichkeiten einiger Graphen sind zum Teil auch deutliche Unterschiede im Verhalten der zwitterionischen Austauscher auszumachen. Ein deutlich von den anderen stationären Phasen abweichendes Verhalten zeigt das Sulfobetain mit zwei Methylengruppen zwischen den

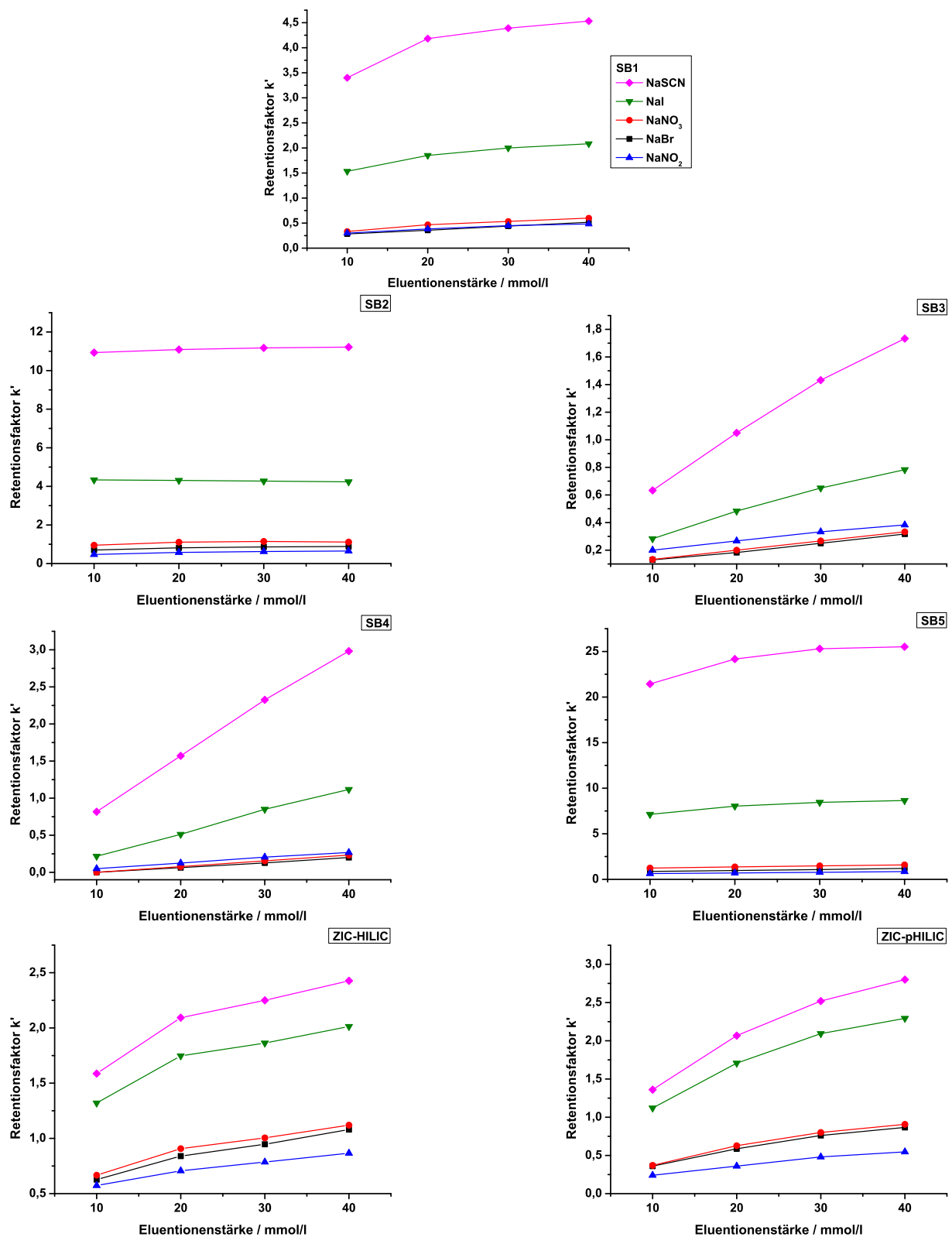


Abbildung 6.62: Variation der Elutionenkonzentration. Eluent: Natriumacetat, pH 4,75, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

Ladungen. Die Veränderung der Elutionenstärke führt hier zu keinerlei Änderung in den Retentionsfaktoren. Die Anionenretention ist also vollkommen unabhängig von der in der Lösung vorliegenden Konzentration an Ionen.

Zur Erklärung dieses Befundes kann die Theorie der EDL nicht herangezogen werden. Die Elektronenwolke um die Austauschergruppen wird sich beim **SB2**-Austauscher sicherlich analog zu den anderen Materialien verhalten. Ohne Elutionen kann keine hantelförmige Ladungswolke vorhanden sein. Bei hohen Elutionenstärken wird auch um das **SB2**-Material eine solche Ladungsverteilung auftreten. Der Grund für das besondere Verhalten dieses Austauschers muss also in einer anderen Besonderheit gesucht werden.

Unter Punkt 6.2.4 wurden bereits die Polaritäten der einzelnen Monomermoleküle diskutiert. Zentrales Ergebnis dieser Untersuchung war die Tatsache, dass das Ionomer **SB2** das polarste Molekül darstellt, während z. B. beim Ionomer **SB1** die gegenseitig geladenen funktionellen Gruppen so dicht zusammenliegen, dass ihre Ladungen sich direkt kompensieren. Beim Ionomer **SB2** sind die Ladungen so weit voneinander getrennt, dass eine direkte Kompensation nicht mehr möglich ist. Zudem ist der unpolare Abstandshalter, bestehend aus zwei Methylengruppen zwischen den Ladungen, so kurz und unflexibel, dass ein Einfalten der funktionellen Gruppe und damit eine intramolekulare Absättigung der Ladungen nicht möglich ist. Daher stellt das Ionomer **SB2** das polarste der untersuchten Moleküle dar.

Übertragen auf die Oberfläche der stationären Phase bedeuten diese Erkenntnisse, dass die funktionellen Gruppen des **SB2**-Austauschers, aufgrund der mangelnden Flexibilität, immer zu einer linearen Ausrichtung in Richtung mobiler Phase gezwungen sind. Durch die mangelnde Fähigkeit zum Einfalten, besitzt die Anionenaustauscherfunktion immer die gleiche gute Zugänglichkeit für Analytanionen. Dies äußert sich zum einen in hohen absoluten Retentionsfaktoren, zum anderen in der Unabhängigkeit der Retentionsfaktoren von der Elutionenstärke. Die lineare Ausrichtung der funktionellen Gruppen ist, unabhängig von der Elutionenkonzentration oder einer EDL, immer gegeben, die gute Zugänglichkeit der Anionenaustauscherfunktion damit auch.

Diese Beobachtung lässt somit Raum für eine eigene Interpretation des Retentionsmechanismus der ZIC. Die Wahl eines anderen Ladungsabstandes konnte zeigen, dass die Zugänglichkeit des quartären Amins, im Rahmen einer geometrischen Anordnung der funktionellen Gruppen, einen entscheidenden Einfluss auf die Trennfähigkeit der Austauscher hat. Die von *Hu*<sup>[28]</sup> getroffene Aussage, dass die Retentionsfaktoren von C3-Austauschern mit steigender Ionenstärke steigen, ist somit zwar korrekt. Der eigentliche Grund für diese Steigerung ist aber wohl eher darin zu sehen, dass durch Steigerung der Ionenstärke eine Linearisierung der funktionellen Gruppen bzw. ein Entfalten hervorgerufen wird. Elektronische Effekte (EDL) sind hierfür eher nebensächlich.

Dennoch dürfen elektronische Effekte nicht vollständig außer Acht gelassen werden. Wäre dies der Fall, müsste sich das Material **SB1** aufgrund der ebenfalls vorhandenen Inflexibilität ähnlich wie der Austauscher **SB2** verhalten. Auf den Einfluss elektronischer Effekte wird jedoch weiter unten eingegangen.

Zunächst bleibt in Abbildung 6.62 noch festzustellen, dass die Austauscher **SB3** und **SB4** zwar auch eine Steigerung der Retentionsfaktoren mit steigenden Ionenstärken erfahren, diese Kurvenverläufe jedoch eher auf einen linearen Anstieg hindeuten. Bei genauerer Betrachtung des letzten Datenpunktes für das Material **SB3** fällt jedoch ein leichtes Abflachen der Kurve auf. Die Austauscher **SB3** und **SB4** scheinen also prinzipiell ein mit der klassischen Theorie erklärbares Verhalten zu zeigen. Das Abflachen der Kurven sowie die Maxima der Retentionsfaktoren werden jedoch erst bei deutlich höheren Elutionenstärken erreicht. Dennoch liegen die Absolutwerte der Retentionsfaktoren unterhalb derer der kommerziellen Austauscher. Der Grund hierfür könnte in einer höheren lokalen Austauscherkapazität der PS/DVB-Materialien zu sehen sein.

Zwar konnte unter Punkt 6.5.3 gezeigt werden, dass die kommerziellen Trennsäulen höhere Gesamtkapazitäten aufweisen, was auch die höheren Retentionsfaktoren im direkten Vergleich zum **SB3**-Austauscher erklärt. Unter Punkt 6.6.2 wurde jedoch bereits der Einfluss hoher lokaler Austauscherkapazitäten diskutiert. Eine Anbindung von Homopolymerkettens an das PS/DVB-Trägermaterial erklärt höhere lokale Austauschergruppendichten. Um bei diesen, dicht zusammenliegenden funktionellen Gruppen eine Linearisierung zu bewirken, und damit deren Zugänglichkeit zu verbessern, sind evtl. höhere Elutionenstärken notwendig. Die Austauscher **SB3** und **SB4** könnten somit, trotz reduzierter Reaktionstemperaturen während der Synthese, hohe lokale Kapazitäten aufgrund der Anbindung von Homopolymerkettens aufweisen.

Denkbar ist allerdings auch ein weiterer Erklärungsansatz. Ebenso, wie deutlich höhere lokale Kapazitäten die beobachteten Kurvenverläufe erklären würden, könnte das **SB3**-Material auch geringfügig niedrigere lokale Kapazitäten im Vergleich zu den kommerziellen Austauschern aufweisen. Dies wäre der Fall, wenn keine **SB3**-Homopolymerkettens an das Trägermaterial angebunden würden, sondern eine Monolage an **SB3**-Gruppen. In diesem Fall würden die lokalen Kapazitäten mit den bestimmten Gesamtkapazitäten der Materialien korrelieren. Der Unterschied zwischen den kommerziellen Austauschern und der **SB3**-Phase könnte dann daher rühren, dass die zwitterionischen Gruppen des ZIC-HILIC- und ZIC-pHILIC-Austauschers sehr dicht beisammen liegen. *Nesterenko et al.*<sup>[22]</sup> haben in Bezug auf vollständig mit einer Monolage an Tensiden belegte C18-Austauscher die Abstände der einzelnen funktionellen Gruppen auf der Trägermaterialoberfläche bestimmt. Diese betragen – in Abhängigkeit des eingesetzten Tensids – zwischen 10,2 Å und 11,4 Å und liegen damit bereits in der Größenordnung der Abstände zwischen den Ladungen der Sulfobetainketten (5,2 Å für einen C4-Abstand)<sup>[22]</sup>. Ein

direkter Vergleich der kovalent gebundenen Austauscher mit den dynamisch belegten Materialien ist zwar grundsätzlich nicht möglich – zumal auch die Kapazitäten der dynamisch belegten Austauscher nicht angegeben sind –, dennoch zeigen die Untersuchungen von *Nesterenko et al.*, dass zwitterionische funktionelle Gruppen prinzipiell auf einer Oberfläche so dicht zusammen liegen können, dass es zu intermolekularen Wechselwirkungen kommen kann.

Überträgt man diese Vortstellung auf den Unterschied zwischen dem **SB3**-Material und den ZIC-HILIC-/ZIC-PHILIC-Austauschern, könnten die funktionellen Gruppen der kommerziellen stationären Phasen aufgrund der etwas höheren Kapazitäten – und damit höheren Austauschergruppendichten – gerade dicht genug zusammen liegen, um intermolekulare Wechselwirkungen einzugehen. Die funktionellen Gruppen des **SB3**- und **SB4**-Materials würden dann gerade so weit voneinander entfernt sein, dass nur intramolekulare Wechselwirkungen möglich sind. In diesem Fall könnten die Sulfobetaingruppen – anders als in Lösung – an der festen Phase stabile innere Ionenpaare bilden. Diese benötigten, trotz geringerer Gesamtkapazitäten, höhere Ionenstärken, um durch Elutionen geöffnet zu werden. Bei den kommerziellen Austauschern könnten die intermolekularen Wechselwirkungen die Bildung innerer Ionenpaare schwächen, weshalb diese bereits bei niedrigeren Ionenstärken das typische Verhalten zwitterionischer Austauscher zeigen. Dies würde ebenfalls die beobachteten Unterschiede erklären. Welche der beiden Erklärungsvarianten tatsächlich zutrifft, kann jedoch an dieser Stelle nicht abschließend geklärt werden.

#### 6.7.2.2 Variation des Eluent-pH-Werts

Wie am Beispiel des **SB1**-Austauschers bereits angesprochen wurde, müssen neben der räumlichen Ausrichtung der funktionellen Gruppen noch weitere Effekte einen Einfluss auf die Anionenretention haben. Um diese genauer zu untersuchen, wird nach der Elutionenstärke nun systematisch der Eluent-pH-Wert variiert. Darüber könnte eine Klärung der elektronischen Effekte von ZIC-Trennungen möglich sein.

Als Eluent kommt für diese Untersuchung neben Natriumacetat-Eluenten der Konzentration 40 mmol/l mit pH-Werten von 3,00, 4,00, 4,75 und 6,00 auch ein Natriumhydrogencarbonat-Eluent derselben Konzentration mit einem pH-Wert von 8,40 zum Einsatz. Dieser soll verdeutlichen, dass die pH-Abhängigkeit zum Teil auch unabhängig von den verwendeten Elutionen einen stetigen Verlauf nehmen kann. Eine direkte Einbeziehung der Datenpunkte bei pH 8,40 ist jedoch grundsätzlich nur unter Vorbehalt möglich. Die Auftragungen der Retentionsfaktoren gegen die Eluent-pH-Werte sind in Abbildung 6.63 für alle untersuchten Austauscher zusammengefasst.

Aus diesen Graphen wird deutlich, dass die Unterschiede zwischen den einzelnen Austauschermaterialien bei Änderung des pH-Wertes bereits vielfältiger und stärker ausfallen, als es bei



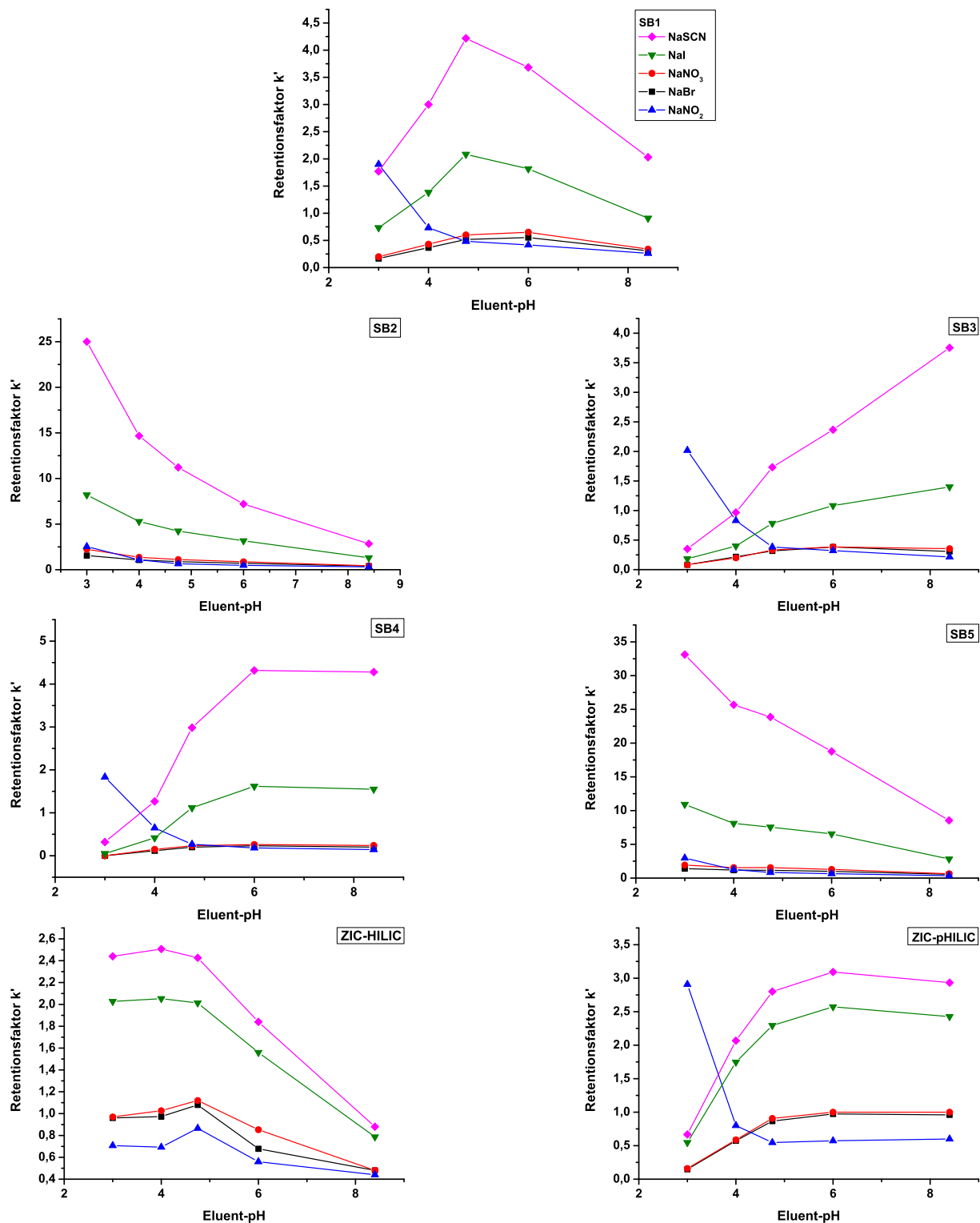


Abbildung 6.63: Variation des pH-Werts des Eluenten. Eluent: 40 mmol/l Natriumacetat, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

der Variation der Elutionenstärke der Fall war. Das Spektrum reicht von unstetigen Kurvenverläufen mit maximalen Retentionsfaktoren im mittleren pH-Bereich (**SB1**, ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC), über fallende Retentionsfaktoren mit steigenden pH-Werten bis hin zu steigenden Retentionsfaktoren mit ansteigenden pH-Werten. Die unterschiedlichen stationären Phasen werden daher im weiteren Verlauf in sich ähnlich verhaltende Gruppen eingeteilt und abgehandelt.

Die erste, sehr auffällige Beobachtung, die – unabhängig von der Gruppeneinteilung – für alle Austauscher mit Ausnahme der ZIC-HILIC-Trennsäule zutrifft, ist das ungewöhnliche Verhalten der Retentionsfaktoren für Nitrit. Nitrit verhält sich bei pH-Werten von 4,00 und niedriger meist gegenläufig zu den übrigen Analyten. Dies ist jedoch keine intrinsische Eigenschaft der stationären Phasen, sondern eine Eigenschaft des Nitrts. Nitrit ist das Salz der schwachen salpetrigen Säure. Das Säure/Basen-Paar  $\text{HNO}_2/\text{NO}_2^-$  weist einen  $\text{pK}_\text{S}$ -Wert von 3,29<sup>[148]</sup> auf. Bei einem pH-Wert von 3,29 liegen Nitrit und salpetrige Säure also in äquimolaren Mengen vor. Entsprechend steigt bei Absenkung des pH-Wertes auf 4,00 und niedriger der Prozentsatz an undissoziierter salpetriger Säure. Das somit ungeladene Molekül – bzw. das Molekül im Gleichgewicht mit dem Nitrit-Ion – erfährt offensichtlich bei niedrigen pH-Werten eine stärkere Retention als die übrigen Anionen. Diese Retention der undissoziierten und damit ungeladenen Säure muss in erster Linie auf sekundäre Wechselwirkungen mit der stationären Phase zurückgeführt werden. Alle anderen Analyten sind Salze starker Säuren und liegen demnach im betrachteten pH-Werte-Bereich immer vollständig dissoziiert vor. Der Retentionsmechanismus des Nitrts unterscheidet sich daher bei niedrigen pH-Werten vom Mechanismus der übrigen Anionen. Dies erklärt die beobachteten Unterschiede.

Unabhängig von der dissoziationsbedingten Besonderheit des Nitrts wird zunächst mit der Interpretation des Kurvenverlaufs für das Material **SB1** begonnen. Es wird an dieser Stelle postuliert, dass der Kurvenverlauf dieses Austauschers mit den Graphen der kommerziellen Trennsäulen ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC vergleichbar ist. Diese drei Trennsäulen stellen somit die erste Austauscher-Gruppe dar. Zwar zeigen die drei Materialien keine absolut identischen Abhängigkeiten vom pH-Wert des Eluenten, der qualitative Eindruck, mit maximalen Retentionsfaktoren bei mittleren pH-Werten und abfallenden Retentionsfaktoren – zumindest zu einer Seite der Graphen hin – ist jedoch bei allen drei Auftragungen in Abbildung 6.63 ähnlich.

Beim Material **SB1** kommt es mit steigendem pH-Wert von 3,00 bis 4,75 zu einem Anstieg der Retentionsfaktoren. Um diesen zu erklären, muss bedacht werden, welche chemischen Prozesse bei pH-Wert-Veränderungen von Natriumacetat-Eluenten eintreten. Zunächst wird Essigsäure deprotoniert und somit in Natriumacetat überführt. Hierdurch wird effektiv die Gesamtionenstärke des Eluenten erhöht, da aus ungeladenen Essigsäuremolekülen  $\text{Na}^+$ - und  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ -Ionen gebildet werden. Diese Erhöhung der Ionenstärke könnte – bei der literaturbekannten Theorie<sup>[28]</sup>

bleibend – eine fortschreitende Ausbildung der EDL bewirken. Ein Anstieg der Retentionsfaktoren ist somit zu erwarten. Beim **SB1**-Austauscher ist dieser Anstieg aufgrund des kurzen Ladungsabstands – im Gegensatz zu den kommerziellen Austauschern – allerdings nicht über eine Linearisierung der funktionellen Gruppen zu erklären. Zudem erklärt die klassische Theorie nicht den Abfall der Retentionsfaktoren mit weiter steigendem pH-Wert.

Wird der pH-Wert über den  $pK_s$ -Wert der Carbonsäure hinaus gesteigert, kommt es immer noch zu einer leichten Erhöhung der Acetatkonzentration und damit der Gesamtionenstärke. Es sollte daher höchstens eine Stagnation der Retentionsfaktoren eintreten. Um den beobachteten Abfall erklären zu können, muss man sich jedoch einer weiteren Theorie bedienen. Ändert man den pH-Wert eines Natriumacetat-Eluenten, werden zusätzlich zur Acetatkonzentration auch die Konzentrationen an Hydroxid- und Oxonium-Ionen (im weiteren Verlauf der Arbeit vereinfacht  $H^+$  genannt) verändert. Die steigende Hydroxid-Ionen-Konzentration sollte sich jedoch allenfalls analog zu einer steigenden Acetatkonzentration auswirken. Entscheidender ist in diesem Zusammenhang die  $H^+$ -Konzentration.

Wie unter Punkt 2.5.1 bereits dargestellt, spielt die Ausbildung von *Donnan*-Membranen eine entscheidende Rolle bei der Retention von Anionen auf Sulfbetain austauschern<sup>[11][12]</sup>. So hängen die Retentionsfaktoren für die Anionentrennung von der Ladung der sich bildenden *Donnan*-Membran ab. Diese kann, je nach verwendeten Elutionen, positiv oder negativ und vom Betrag her mehr oder weniger stark geladen sein. Die Ladung der sich bildenden Membran wird entscheidend von den abschirmenden Effekten der eingesetzten Eluent-Anionen und -Kationen beeinflusst, wobei die abschirmenden Effekte der unterschiedlichen Ionen von deren Position in der chaotropen *Hofmeister*-Reihe abhängen<sup>[12]</sup>.

Wird z. B. ein stark an die Anionenaustauscherfunktion bindendes – und damit stark abschirmendes – Eluent-Anion eingesetzt, ist das quartäre Amin quasi blockiert. Es bildet sich eine  $\delta^-$ -geladene *Donnan*-Membran aus, die für Anionen nur schwer zu überwinden ist. Die Retentionsfaktoren für die Anionentrennung sinken deutlich ab. In dem hier vorliegenden Fall kommt  $OH^-$  als Eluent-Anion in Frage. In der chaotropen-Reihe steht das Hydroxid-Ion jedoch zusammen mit Fluorid ganz am Anfang, es zeigt also nur sehr gering abschirmende Effekte. Die Abschirmung ist sogar geringer, als die Abschirmung durch Acetat, die Steigerung der Hydroxid-Konzentration sollte also eher zu einer weiteren Steigerung der Retentionsfaktoren führen.

Neben Eluent-Anionen beeinflussen aber auch die Eluent-Kationen die *Donnan*-Membran. So führen stark an die Kationenaustauscherfunktion bindende Kationen zu einer Blockierung der Sulfonsäuregruppe, die sich ausbildende Membran wird schwächer negativ bzw. sogar positiv. Durch eine positiv geladene Membran können Anionen sehr gut zur Anionenaustauscherfunktion gelangen, die Retentionsfaktoren steigen. Unter Punkt 2.5.1 in Gleichung 2.30 wurde  $H^+$

in der chaotropen Reihe der Kationen zwar in Klammern gesetzt, da es eine Sonderrolle einnimmt. Es wird jedoch bei den stark abschirmenden Kationen eingeordnet. Einen Beweis für die starke Affinität von  $H^+$  zu Kationenaustauscherfunktionen lieferten *Hu et al.*<sup>[66]</sup> im Rahmen der Untersuchung von Phosphocholinaustauschern mit invertierten Ladungsverhältnissen bezogen auf Sulfobetain austauscher. Diese stationären Phasen sind gut dafür geeignet, Kationen zu trennen.  $H^+$  erfährt dabei eine sehr starke Retention und eluiert sogar nach den stark abschirmenden Kationen  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$  und  $Ba^{2+}$ .

Von einem starken Abschirmungseffekt durch  $H^+$  kann also ausgegangen werden. Dies erklärt die beobachtete Abnahme der Retentionsfaktoren unter Verwendung des **SB1**-Austauschers sowie der ZIC-HILIC- und ZIC-pHILIC-Materialien bei steigenden pH-Werten im Bereich von 4,75 bis 8,40. Mit sinkender  $H^+$ -Konzentration nimmt der abschirmende Effekt ab, die resultierende *Donnan*-Membran wird weniger positiv bzw. stärker negativ, die Retentionsfaktoren sinken. Bei den Austauschern ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC ergeben sich somit insgesamt konkurrierende Effekte zwischen der Linearisierung der Austauschergruppen und der sinkenden Abschirmung der Sulfonsäure durch  $H^+$ . Solange die funktionellen Gruppen nicht linear ausgerichtet sind bzw. noch eine gewisse Einfaltung aufweisen, ist die Ausbildung einer *Donnan*-Membran nicht möglich, der Einfluss der Elutionenstärke überwiegt. Ist die Linearisierung abgeschlossen, wirken die abschirmenden Effekte. Dies führt zu maximalen Retentionsfaktoren bei mittleren pH-Werten. Beim **SB1**-Austauscher sind die im pH-Werte-Bereich von 3,00 bis 4,75 zunehmenden Retentionsfaktoren nicht auf eine Linearisierung sondern auf eine abnehmende intramolekulare Absättigung zurückzuführen. Bei maximaler Absättigung, d. h. ohne Elutionen, wird die Ausbildung von *Donnan*-Membran gehindert. Dies normalisiert sich erst ab einer gewissen Elutionenstärke. Auch ohne den Einfluss der Linearisierung, kommt es beim **SB1**-Material also erst ab einem pH-Wert von etwa 4,75 und der damit einhergehenden Elutionenstärke zu einer merklichen Ausbildung der *Donnan*-Membran und damit zu einem Einfluss der  $H^+$ -Konzentration.

Betrachtet man nun mit den Materialien **SB2** und **SB5** die zweite Gruppe von Austauschern, bestätigt sich dieser Eindruck. Besonders der Graph der **SB2**-Phase zeigt einen exponentiellen Abfall der Retentionsfaktoren mit steigendem pH-Wert. Für diesen Austauscher konnte bei Variation der Elutionenstärke keine Abhängigkeit für  $k'$  beobachtet werden. Die sich ändernde Elutionenkonzentration kann somit nicht für die Abnahme der Retentionsfaktoren verantwortlich sein. Der Grund für dieses Verhalten muss in der Abnahme der  $H^+$ -Konzentration gesehen werden. Der sinkende Abschirmungseffekt macht sich direkt durch absinkende Retentionsfaktoren bemerkbar.

Für das **SB5**-Material kann die Argumentation nicht auf diese Weise geführt werden, da dieser Austauscher bei Veränderung der Elutionenstärke eine ausgeprägte Abhängigkeit der Reten-

tionsfaktoren gezeigt hatte. Dennoch ist der Kurvenverlauf qualitativ ähnlich zum Verlauf des **SB2**-Austauschers. Der Effekt der *Donnan*-Membran überwiegt also auch beim **SB5**-Material die Effekte der Ionenstärke. Aufgrund des großen Abstands zwischen den Ladungen ist somit die im Rahmen der pH-Variation eingesetzte Ionenstärke von 40 mmol/l so hoch, dass eine Änderung der Acetat-Konzentration keinen merklichen Einfluss auf die Retentionsfaktoren hat. Dennoch ist beim **SB5**-Austauscher ein leichter Knick der Kurven bei einer pH-Wert-Steigerung von 4,00 auf 4,75 zu erkennen, der auf einen geringen Einfluss durch die Elutionenstärke hindeutet.

Gegenteilig verhält es sich bei den Austauschern **SB3** und **SB4**, welche die dritte Gruppe an stationären Phasen ausmachen. Diese Materialien zeigen steigende Retentionsfaktoren mit steigendem pH-Wert. In diesem Fall überwiegt die Ausbildung der EDL oder aber die Linearisierung der funktionellen Gruppen die Einflüsse der *Donnan*-Membran. Der Grund für dieses Verhalten kann wieder in der vermuteten höheren lokalen Austauscherkapazität dieser stationären Phasen, oder aber in der Ausbildung innerer Ionenpaare, zu sehen sein. In beiden Fällen sind bei einer Elutionenstärke von 40 mmol/l die dicht zusammenliegenden funktionellen Gruppen der Homopolymerketten, oder aber die inneren Ionenpaare, bei weitem noch nicht linear ausgerichtet, sondern sie sind noch zu einem großen Teil eingefaltet. Derart eingefaltete Gruppen erschweren oder verhindern gar die Ausbildung von *Donnan*-Membranen. Für die Ausbildung dieser Membranen ist nämlich ein Mindestmaß an Symmetrie bzw. linearer Ausrichtung der Austauschergruppen notwendig. Da die Ausbildung der *Donnan*-Membranen aufgrund der hohen lokalen Kapazitäten oder der Ausbildung innerer Ionenpaare bei nicht ausreichender Elutionenstärke also gehindert ist, überwiegen die Effekte der steigenden Elutionenstärke. Auch hier kann der tatsächliche Grund für die spät eintretende Linearisierung der funktionellen Gruppen nicht eindeutig ermittelt werden.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass die untersuchten Austauschermaterialien in Abhängigkeit der Abstände zwischen den Ladungen zum Teil deutlich unterschiedliche Verhalten zeigen. Während die Variation der Elutionenstärke im Wesentlichen nur ein deutlich anderes Verhalten für das **SB2**-Material gezeigt hat, kann durch Variation des Eluent-pH-Werts ein breites Spektrum an unterschiedlichen Kurvenverläufen beobachtet werden. Die Betrachtung beider Eluentveränderungen in Kombination führt zu der Erkenntnis, dass das **SB2**-Material aufgrund der erzwungenen linearen Ausrichtung der funktionellen Gruppen eine Sonderrolle einnimmt. Diese stationäre Phase reagiert nicht auf eine Änderung der Elutionenstärke, sondern lediglich auf die abschirmenden Effekte durch  $H^+$ . Für die anderen Austauscher konnte beobachtet werden, dass diese Konkurrenzen zwischen der steigenden Elutionenstärke und sinkenden Abschirmungseffekten durch  $H^+$  zeigen. Bei Austauschern, die bereits nahe der entgültigen Linearisierung sind (fast vollständig ausgebildete EDL), führt dies zu einem unstetigen Verhalten

mit maximalen Retentionsfaktoren bei mittleren pH-Werten. Bei Austauschern, die weit von der Linearisierung der funktionellen Gruppen entfernt sind (**SB3** und **SB4**), überwiegt hingegen die Steigerung der Elutionenstärke.

Die Untersuchung der Anionentrennung unter ZIC-Bedingungen liefert somit bei Verwendung der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher weitreichende, neuartige Erkenntnisse über die Trennmechanismen. Für alle untersuchten Austauscher kann gezeigt werden, dass es sich bei den Trennungen um zwitterionenchromatographische Effekte handelt. Einflüsse der klassischen Ionenaustauschchromatographie werden nicht beobachtet. Die bisherigen theoretischen Konzepte zur Beschreibung der ZIC können zum Teil bestätigt werden (vgl. *Donnan*-Membranen), teilweise führt speziell die Betrachtung des **SB2**-Austauschers jedoch zu bisher nicht literaturbekannten Schlüssen. So scheint die Linearisierung der zwitterionischen funktionellen Gruppen mit steigender Elutionenstärke der eigentliche Grund für die Erhöhung der Retentionsfaktoren anorganischer Anionen zu sein.

### 6.7.3 Aminosäurentrennung

Nachdem die Trennung anorganischer Anionen unter Verwendung von Natriumacetat-Eluenten sehr gute und interessante Ergebnisse lieferte, sollen unter gleichbleibenden Bedingungen weitere Analytgruppen untersucht werden. Besonderes Interesse kommt dabei den  $\alpha$ -Aminosäuren zu, da diese aufgrund ihrer ampholytischen Eigenschaften bzw. ihres Vorliegens als zwitterionische Moleküle bei bestimmten pH-Werten besonders gut für die Trennung mit zwitterionischen stationären Phasen geeignet sein sollten.

Erste Überlegungen führen zu der Annahme, dass eine Trennung der Aminosäuren bei neutralen pH-Werten – also nahe den isoelektrischen Punkten (pI) der Aminosäuren – besonders erfolgversprechend sein sollten. Da ausschließlich  $\alpha$ -Aminosäuren eingesetzt werden, also Aminosäuren mit einer Methylengruppe zwischen den geladenen Gruppen, werden überproportional starke Wechselwirkungen mit dem **SB1**-Austauscher erwartet. Analyt und stationäre Phase sollten bei dieser Kombination in einer antiparallelen Anordnung zwei Orte elektrostatischer Wechselwirkungen vorweisen und daher zu hohen Retentionszeiten führen. Diese Vorstellung ist schematisch in Abbildung 6.64 gezeigt.

Um zu beurteilen, bei welchen pH-Werten Aminosäuremessungen sinnvoll durchgeführt werden können, sind zunächst jedoch einige physikalisch-chemische Eigenschaften der zu untersuchenden Aminosäuren von Interesse. Wie bereits erwähnt, sind dies zum einen die Werte der isoelektrischen Punkte. Zudem können auch noch die  $pK_s$ -Werte der einzelnen Carbonsäure- und Aminfunktionen sowie die Anzahl der Aminfunktionalitäten nützlich sein. Für die untersuchten Aminosäuren sind diese Daten in Tabelle 6.12 zusammengefasst.

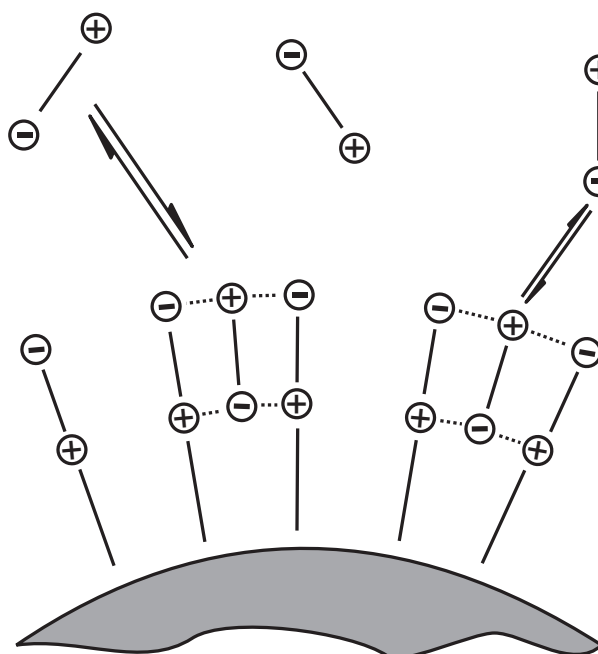


Abbildung 6.64: Schematische Darstellung der erwarteten Aminosäurewechselwirkungen bei vergleichbarem Ladungsabstand der Aminosäure sowie der stationärer Phase.

Tabelle 6.12: Untersuchte Aminosäuren mit pI und pK<sub>S</sub>-Werten<sup>[149]</sup>.

Aminosäure	pK <sub>S</sub> COOH	Isoelektrischer Punkt	pK <sub>S</sub> NH <sub>2</sub>
DL-Alanin	2,30	6,10	9,90
L-Arginin	2,81	11,76	9,09/13,2
L-Asparagin	2,02	5,41	8,80
Glycin	2,21	5,97	9,15
L-Leucin	2,40	5,98	9,60
L-Lysin	2,20	9,59	8,90/10,28
L-Prolin	1,99	6,30	10,60
DL-Valin	2,30	5,96	9,60

Die isoelektrischen Punkte liegen für die meisten Aminosäuren im Bereich von 6,0. Lediglich die beiden basischen Aminosäuren L-Arginin und L-Lysin zeigen deutlich höhere pI-Werte. Dies liegt daran, dass diese beiden Aminosäuren jeweils zwei Aminfunktionalitäten aufweisen. Die pI-Werte müssen somit zwischen den beiden  $pK_S$ -Werten der Amine liegen, damit die Amine in Summe eine Ladung von +1 aufweisen und damit die Ladung der Carbonsäure (-1) kompensieren. Die  $pK_S$ -Werte der Carbonsäurefunktionen liegen mit 2,02 bis 2,81 insgesamt sehr dicht zusammen.

Ein pH-Wert von 6,00 sollte daher hervorragend geeignet sein, um die – unter diesen Bedingungen – als Zwitterionen vorliegenden Aminosäuren mithilfe des Austauschers **SB1** trennen zu können. Bezüglich der Elutionenstärke wird der bereits mehrfach eingesetzte Standard-Eluent mit einer Natriumacetat-Konzentration von 20 mmol/l eingesetzt. Die Detektion der Aminosäuren erfolgt mittels gepulster amperometrischer Detektion (PAD). Der Aufbau des chromatographischen Systems und die eingesetzte Potentialsequenz sind unter den Punkten 7.8.4 ff. ausführlich dargestellt. Die Überlagerung der chromatographischen Trennungen von acht  $\alpha$ -Aminosäuren unter Verwendung des Austauschers **SB1** ist in Abbildung 6.65 dargestellt.

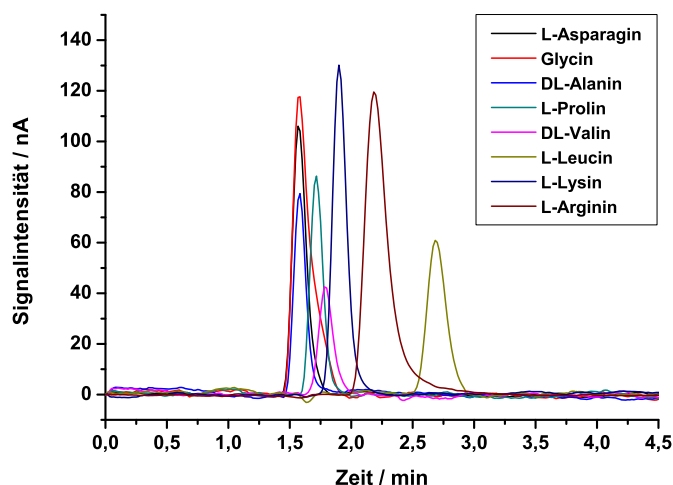


Abbildung 6.65: Trennung eines Aminosäurengemisches bestehend aus acht  $\alpha$ -Aminosäuren, Eluent: 20 mmol/l Natriumacetat, pH 6,00, gepulste amperometrische Detektion, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 2 mg/kg bis 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm, Trennsäule: **SB1**.

Eine Antrennung der Aminosäuren ist unter diesen Bedingungen zwar gegeben, für einen analytischen Einsatz der Methode sind die Retentionszeiten jedoch noch deutlich zu kurz. Das **SB1**-Material ist also grundsätzlich in der Lage, Aminosäuren in ihrer zwitterionischen Form zu retardieren, eine Steigerung der Retentionsfaktoren ist jedoch zwingend erforderlich. Um Einfluss auf das chromatographische System zu nehmen, und eine Änderung der Retentionsfaktoren



zu erwirken, bietet der Natriumacetat-Eluent die bereits unter Punkt 6.7.2 genannten Optionen. Zum einen kann die Eluentenstärke angepasst werden, zum anderen ist eine Variation des Eluent-pH-Wertes denkbar.

### 6.7.3.1 Variation des Eluent-pH-Werts

Um zu klären, ob es sich bei der beobachteten Retention tatsächlich um eine Trennung zwitterionischer Aminosäuren an der zwitterionischen stationären Phase handelt, wird zunächst Einfluss auf den zwitterionischen Charakter der Aminosäuren genommen. Dies geschieht durch Änderung des Eluent-pH-Wertes. Wird der pH-Wert des Eluenten schrittweise bis unterhalb der  $pK_S$ -Werte der Carbonsäuregruppen abgesenkt, sollten die Aminosäuren ihren zwitterionischen Charakter verlieren und in einer kationischen Form vorliegen. Für die Retentionszeiten wird bei dieser Eluent-Variation eine Reduktion mit sinkendem pH-Wert erwartet.

Um dies zu bestätigen, wird der pH-Wert bei gleichbleibender Eluentenstärke von 6,00 auf 4,75, 4,00 und 3,00 abgesenkt. Die entsprechenden Auftragungen der Retentionsfaktoren gegen die pH-Werte sind für alle fünf homologen Austauscher sowie für die kommerziellen Materialien in Abbildung 6.66 gegenübergestellt.

Rein qualitativ betrachtet, zeigen alle Austauscher – mit Ausnahme der Trennsäule ZIC-HILIC – ein vergleichbares Verhalten. Auch wenn die Absolutwerte der Retentionsfaktoren sich z. T. deutlich unterscheiden, ist für alle angesprochenen stationären Phasen eine Steigerung der Retentionsfaktoren mit sinkendem pH-Wert zu beobachten. Zudem ist die Steigerung in allen Fällen recht drastisch und erinnert an eine exponentielle Zunahme. Lediglich der Austauscher ZIC-HILIC zeigt unabhängig vom pH-Wert nur eine geringe Aminosäurenretention. Die Retentionsfaktoren liegen mit maximal 3,0 bereits bei pH 6,00 deutlich unter den Retentionsfaktoren der übrigen Austauscher. Der Einfluss des Grundmaterials – also der Kieselgel-Partikel – scheint in diesem Fall eine Aminosäurentrennung von vornherein auszuschließen. Die Austauscher auf Polymerbasis, einschließlich der methacrylatbasierten ZIC-pHILIC-Phase, zeigen bereits bei pH 6,00 merkliche Aminosäurenretention.

Die beobachteten Kurvenverläufe stehen jedoch im Gegensatz zu den zuvor postulierten Erwartungen. Mit sinkendem pH-Wert steigt die kationische Überschussladung der untersuchten  $\alpha$ -Aminosäuren. Bei einem pH-Wert von 3,00 liegen alle Aminosäuren bereits deutlich als positiv geladene Moleküle vor. Die Erhöhung der Retentionsfaktoren mit steigendem kationischen Charakter lässt jedoch grundsätzlich auf einen kationenaustauschchromatographischen Trennmechanismus schließen. Wider Erwarten werden die Aminosäuren als Kationen stärker retardierte, als in ihrer zwitterionischen Form.

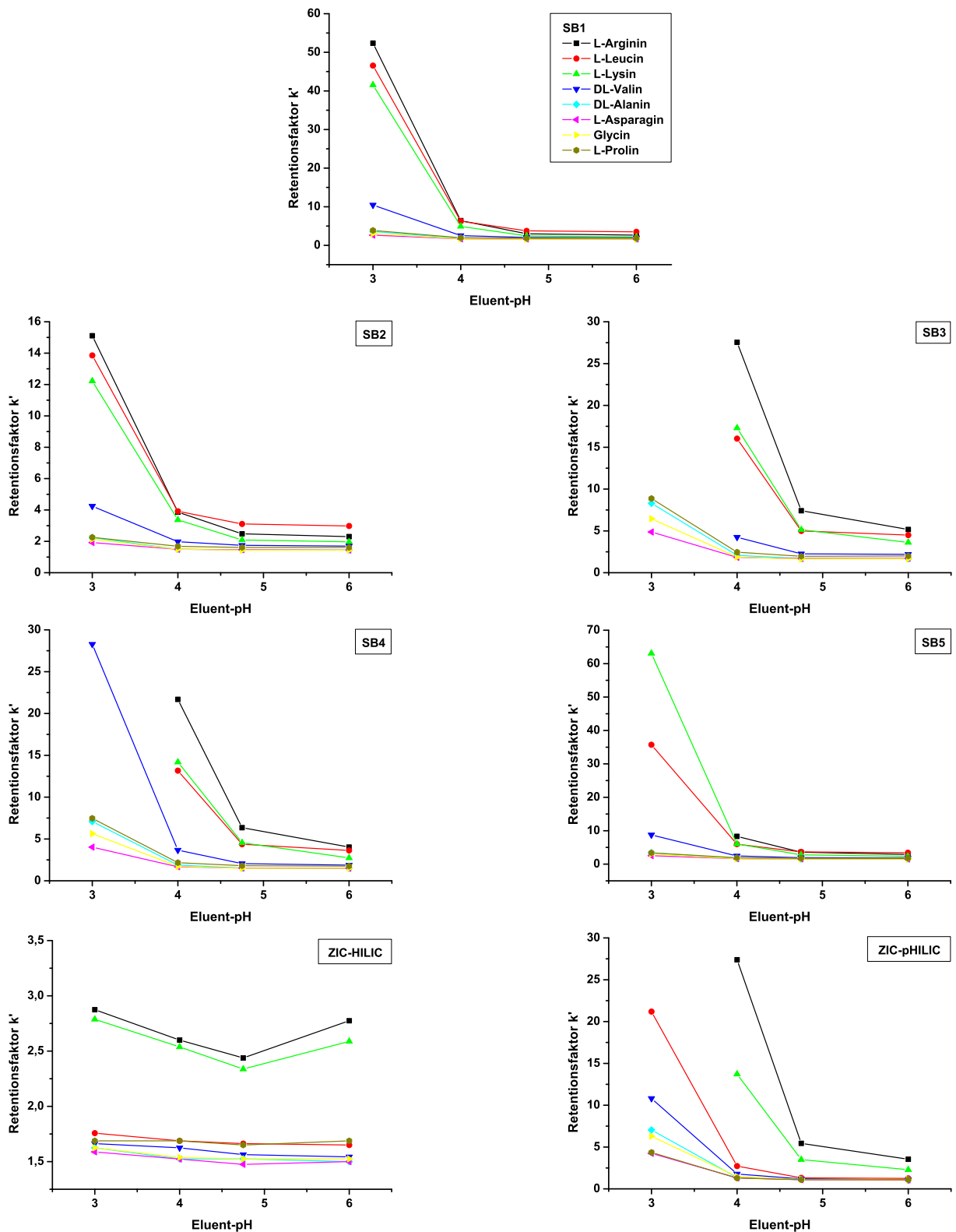


Abbildung 6.66: Abhängigkeit der Retentionsfaktoren von Aminosäuren vom pH-Wert des Eluenten. Eluent: 20 mmol/l Natriumacetat, gepulste amperometrische Detektion, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 2 mg/kg bis 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

Dies ist insbesondere unter Berücksichtigung der zuvor gezeigten Theorien zu den ZIC-Mechanismen verwunderlich<sup>[28]</sup>. Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde festgestellt, dass zwitterionische Austauscher des Sulfobetain-Typs besonders für Anionentrennungen geeignet sind. Trennungen von Kationen lassen sich mit diesen Materialien nur unter ganz bestimmten Bedingungen realisieren. Dennoch werden die Aminosäuren als Kationen mit bemerkenswerten Retentionsfaktoren getrennt.

In Abbildung 6.67 sind die Chromatogramme unter Verwendung eines Natriumacetat-Eluenten der Konzentration 20 mmol/l bei einem pH-Wert von 4,00 für alle untersuchten Austauscher zusammengefasst.

Betrachtet man diese Chromatogramme – unter identischen chromatographischen Bedingungen – fallen direkt deutliche Unterschiede in den Trennleistungen zwischen den verschiedenen Austauschern auf. Die schlechtesten Ergebnisse liefert – wie bereits an den Auftragungen der Retentionsfaktoren gegen die pH-Werte ersichtlich – das kommerzielle ZIC-HILIC-Material auf Kieselgelbasis. Die homologe Reihe an Austauschern zeigt grundsätzlich eine Art Gruppentrennung, wobei die Aminosäuren L-Leucin, L-Lysin und L-Arginin deutlich von den früh eluierenden Signalen entfernt sind. Zum Teil (**SB3** und **SB4**) ist auch eine deutliche Abtrennung des DL-Valin-Signals zu erkennen. Die Peakformen sind für alle hergestellten stationären Phasen akzeptabel. Im Gegensatz zum **SB3**-Austauscher eluiert das L-Leucin auf der ZIC-pHILIC-Trennsäule sehr früh, während die relativen Abstände zum L-Lysin und L-Arginin deutlich größer ausfallen.

Ein guter Überblick über die Abhängigkeit der Trennleistungen von den Abständen zwischen den Ladungen kann wieder erlangt werden, indem die Retentionsfaktoren gegen die Ladungsabstände aufgetragen werden. Dies ist in Abbildung 6.68 dargestellt.

Diese Auftragung ist besonders im Vergleich zu Abbildung 6.61 interessant, in der die Abhängigkeit der Anionentrennung von den Ladungsabständen dargestellt ist. Während für die Anionentrennung besonders die Austauscher **SB2** und **SB5** geeignet sind, ist das Bild in Bezug auf die Aminosäurentrennung genau invertiert. Aminosäurentrennungen können insbesondere auf den stationären Phasen **SB3** und **SB4** gut durchgeführt werden. Die Austauscher, die gute Anionentrennungen gewährleistet haben, verhindern demnach gute Trennungen der kationischen Aminosäuren.

Neben der Auftragung der pH-Werte gegen die Retentionsfaktoren (siehe Abbildung 6.66) liefert diese Abbildung also ein weiteres Indiz dafür, dass es sich bei der Aminosäurentrennung tatsächlich um eine Kationentrennung handelt. Es erscheint nur logisch, dass gerade die Austauscherfunktionen, die eine gute Zugänglichkeit der Anionenaustauschergruppe aufweisen, nicht gut für Kationentrennungen geeignet sind und umgekehrt.

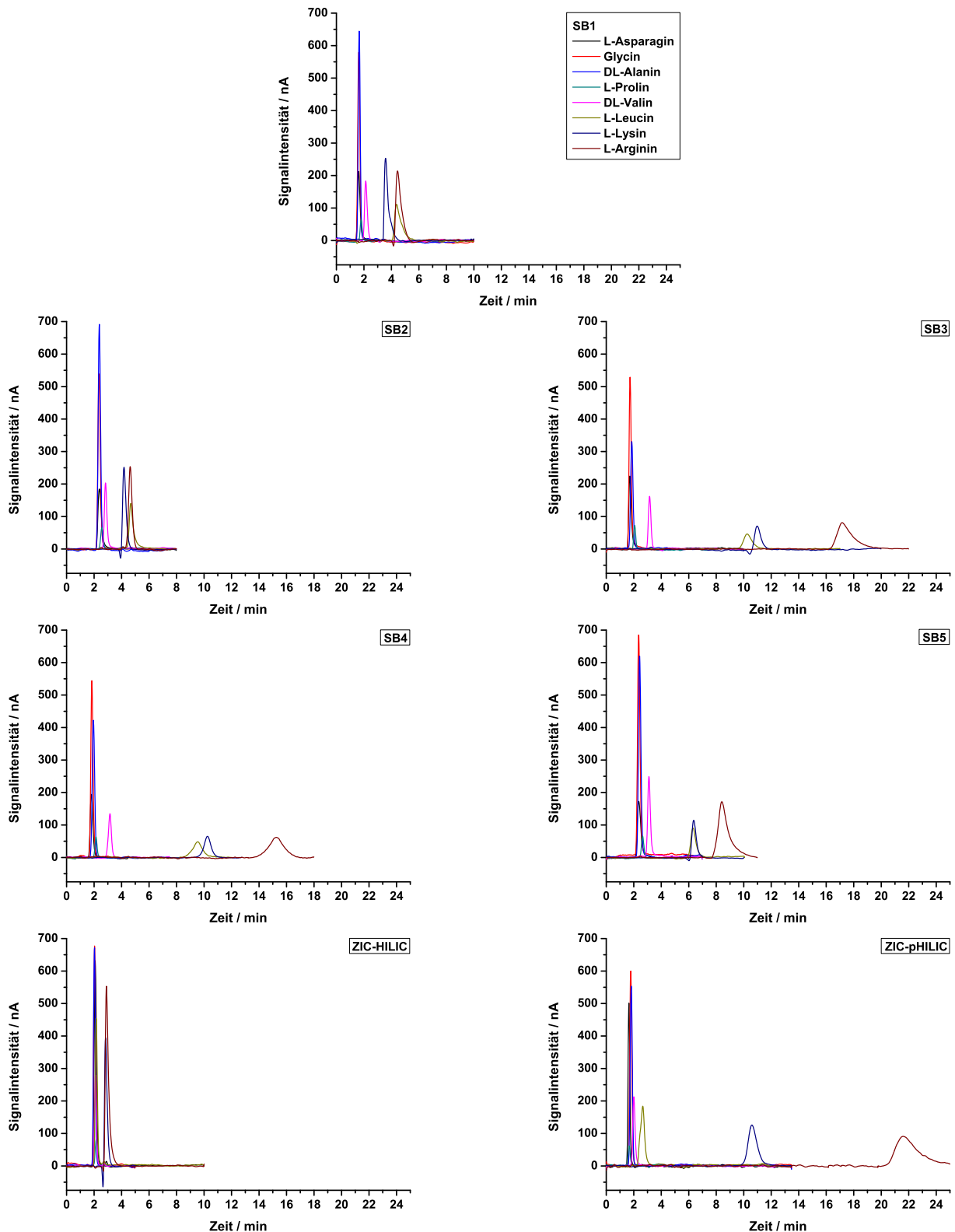


Abbildung 6.67: Chromatographische Trennungen von acht  $\alpha$ -Aminosäuren unter ZIC-Bedingungen. Eluent: 20 mmol/l Natriumacetat, pH 4,00, gepulste amperometrische Detektion, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 2 mg/kg bis 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

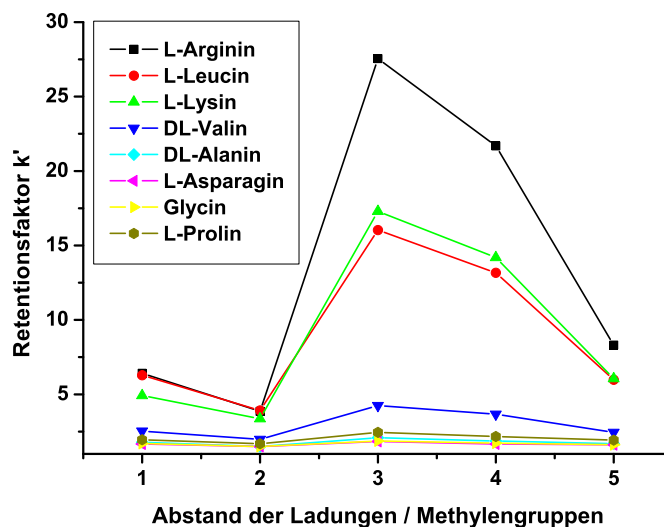


Abbildung 6.68: Abhängigkeit der Aminosäurentrennung von den Abständen zwischen den Ladungen. Eluent: 20 mmol/l Natriumacetat, pH 4,00, gepulste amperometrische Detektion, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 2 mg/kg bis 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

### 6.7.3.2 Variation der Elutionenstärke

Um weitere Einblicke in die Aminosäurentrennung zu erlangen, werden Untersuchungen unter Variation der Elutionenstärke durchgeführt. Zum Einsatz kommt hierfür ein Natriumacetat-Eluent bei einem pH-Wert von 4,00. Die erhaltenen Auftragungen der Retentionsfaktoren gegen die Elutionenstärken sind in Abbildung 6.69 für alle untersuchten Austauscher zusammengefasst.

Alle Graphen sind im Stil klassischer ionenaustauschchromatographischer Auftragungen gehalten. Es handelt sich also jeweils um doppeltlogarithmische Skalierungen, d. h.  $\log k'$  wird gegen  $\log [E^+]$  aufgetragen. Für den Fall eines ionenaustauschchromatographischen Trennmechanismus sollten die Retentionsfaktoren – im Gegensatz zu ZIC-Mechanismen – mit steigender Elutionenstärke abfallen. Dies wird für alle Austauscher beobachtet, wobei auch bei dieser Untersuchung das kommerzielle Material ZIC-pHILIC nicht für die weiteren Beurteilungen herangezogen wird. Die Retentionsfaktoren für die kieselgelbasierte stationäre Phase liegen deutlich unterhalb der Retentionsfaktoren der übrigen Austauscher, zudem führt das andere Grundmaterial offensichtlich zu vollkommen anderen Kurvenverläufen. Die Einflüsse des Grundmaterials sowie der funktionellen Gruppen können für dieses Material nicht klar voneinander getrennt und zugeordnet werden.

Alle übrigen Austauscher zeigen bei der doppeltlogarithmischen Auftragung der Retentions-

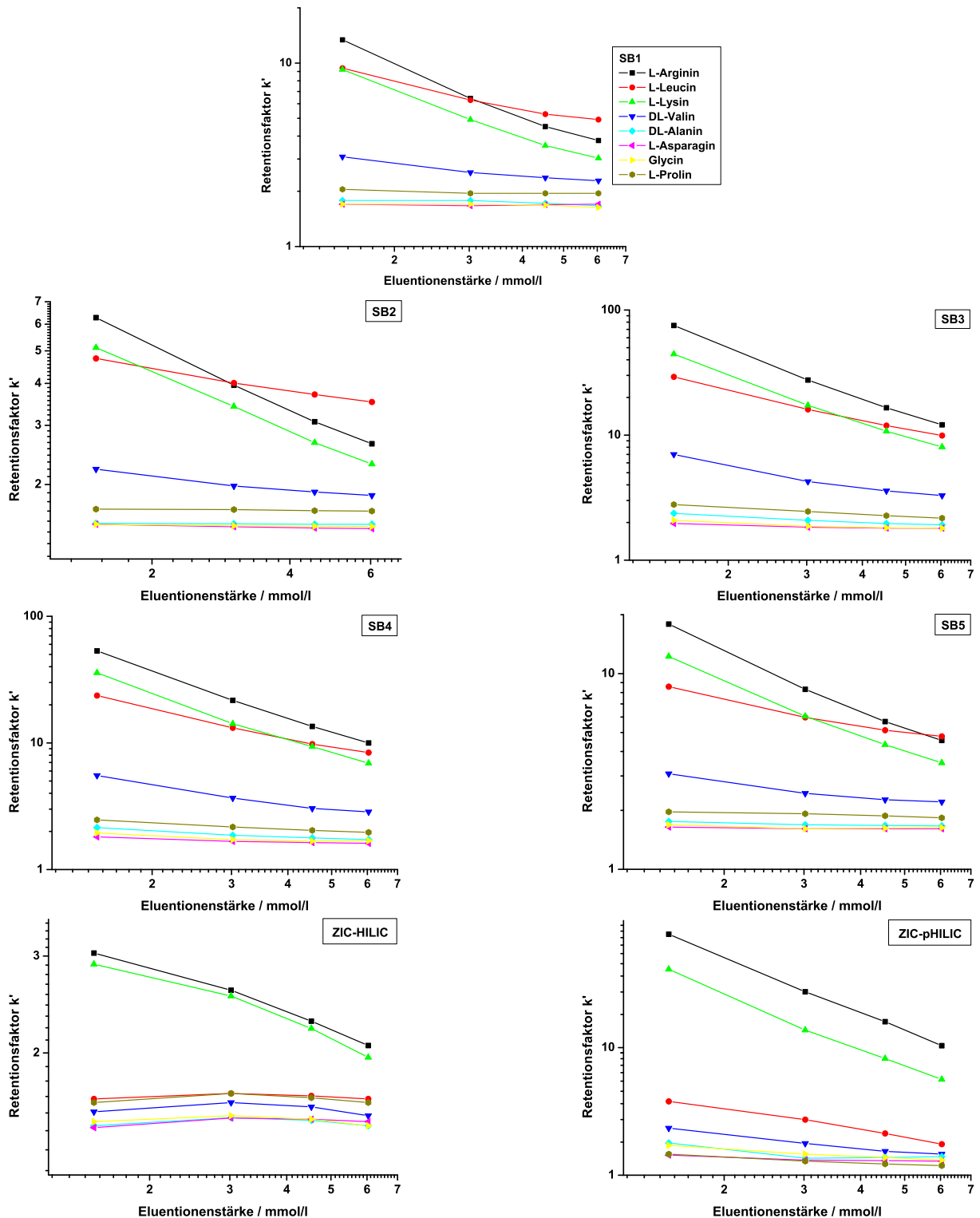


Abbildung 6.69: Einfluss der Elutionenstärke auf die Trennung von  $\alpha$ -Aminosäuren, doppeltlogarithmische Auftragung. Eluent: 20 mmol/l Natriumacetat, pH 4,00, gepulste amperometrische Detektion, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 2 mg/kg bis 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austausch-er).

faktoren gegen die Elutionenstärke beinahe lineare Zusammenhänge. Für einen reinen kationenaustauschchromatographischen Trennmechanismus müssten sich vollständig lineare Zusammenhänge ergeben.

Doch bereits die sich annähernd ausbildenden Geraden sind unter Verwendung der zwitterionischen Phasen auf Sulfobetainbasis außergewöhnlich. Wie bereits beschrieben, sind Sulfobetain-austauscher mit außenliegender Kationenaustauscherfunktion eigentlich nicht für die Trennung von Kationengemischen prädestiniert. Zudem sollte die Anwesenheit der gegenseitig geladenen Anionenaustauscherfunktion innerhalb einer Austauschergruppe jegliche ionenaustauschchromatographische Mechanismen zurückdrängen. Bei allen untersuchten Materialien stehen in direkter Nähe zur Sulfonsäuregruppe quartäre Amine zur Verfügung, die jederzeit für eine inter- oder intramolekulare Absättigung der Ladung der Kationenaustauscherfunktion sorgen könnten. Dennoch kommt es zur Ausbildung kationenaustauschchromatographischer Retentionsmechanismen.

Ein reiner kationenaustauschchromatographischer Mechanismus scheint jedoch dennoch nicht vorzuliegen. Die Krümmungen in den aufgetragenen Kurven deuten auf einen weiteren Mechanismus hin, der sich mit der kationenaustauschchromatographischen Trennung überlagert. Zunächst wurde vermutet, dass die nicht berücksichtigte konzentrationsabhängige Dissoziation der Essigsäure zu Natriumacetat – und damit ein überlagerndes Säure/Basen-Gleichgewicht – zur Krümmung der Kurven führt. Der Anteil der einzelnen Komponenten eines Säure/Basen-Paares bestimmt sich in gepufferten Systemen nach der *Henderson-Hasselbalch-Gleichung*<sup>[150]</sup> über den pH-Wert, den  $pK_s$ -Wert des Puffers sowie die Konzentrationen der Base  $[A^-]$  und der korrespondierenden Säure  $[HA]$  (siehe Gleichung 6.19).

$$pH = pK_s + \lg \frac{[A^-]}{[HA]} \quad (6.19)$$

Bezogen auf das hier verwendete System muss die Summe aus dem  $pK_s$ -Wert und dem Logarithmus des Quotienten aus der Konzentration der Base  $[A^-]$  und der Konzentration der korrespondierenden Säure  $[HA]$  aufgrund der vorgenommenen Einstellung des pH-Wertes gerade 4,00 betragen. Nach Einsetzen der Werte, Umformung der Gleichung und Auflösen des Logarithmus ergibt sich für den Quotienten  $[A^-]/[HA]$  ein Wert von 0,1778. Da bei dem verwendeten Puffersystem die Summe aus Basen- und Säuren-Konzentration immer der angesetzten Gesamtkonzentration des Eluenten entsprechen muss (hier 10 mmol/l, 20 mmol/l, 30 mmol/l und 40 mmol/l) ist grundsätzlich die Summe aus  $[A^-]$  und  $[HA]$  vorgegeben. Durch erneutes Umformen und Einsetzen ergibt sich für die Konzentration der korrespondierenden Säure die Gleichung 6.20.

$$[HA] = \frac{[A^-] + [HA]}{1,1778} \quad (6.20)$$

Über diese Gleichung kann der Dissoziationsgrad der Essigsäure bei gegebenem pH-Wert und bekannter Gesamtkonzentration berechnet werden. Hierdurch ist die Berechnung der Natriumkonzentration und damit die Bestimmung der Gesamtkationenkonzentration möglich. Diese setzt sich als Summe aus Natriumkonzentration (äquimolar zur Acetatkonzentration) und der  $H^+$ -Konzentration (über den pH-Wert) zusammen. Die  $H^+$ -Konzentration beträgt bei einem pH-Wert von 4,00 etwa 0,1 mmol/l und fällt damit gegenüber der Natrium-/Acetat-Konzentration von 1,5 mmol/l (10 mmol/l Gesamtkonzentration) bis 6,0 mmol/l (40 mmol/l Gesamtkonzentration) deutlich geringer aus.

In Abbildung 6.69 ist diese Problematik jedoch bereits berücksichtigt und es sind effektive Eluentkationenstärken aufgetragen. Die Krümmungen der Kurven lassen sich somit nicht über den Dissoziationsgrad der Essigsäure erklären. Eine weitere Vermutung liegt in einem Einfluss des Säure/Basen-Gleichgewichts der Aminosäuren selbst. Die  $pK_S$ -Werte der Carbonsäurefunktionen der Aminosäuren liegen im Bereich von 1,99 bis 2,81 (siehe Tabelle 6.12). Bei einem pH-Wert von 4,00 sind demnach noch nennenswerte Mengen dieser Carbonsäurefunktionen dissoziiert. Der Dissoziationsgrad der Carbonsäuren – und damit auch die effektive Ladung der Aminosäuren – ändert sich folglich bei einer Veränderung der Elutionenstärke.

Um diese Problematik auszuschalten, werden weitere Untersuchungen bei niedrigeren Eluent-pH-Werten durchgeführt. Eine Pufferung durch das bewährte Natriumacetat-System ist bei pH-Werten unterhalb von 3,00 jedoch nicht mehr möglich. Zum einen verliert das System bei diesen pH-Werten sein Puffervermögen, zum anderen würde die Essigsäure größtenteils als undissoziierte Säure vorliegen, die Elutionenstärke wäre also sehr gering.

### 6.7.3.3 Aminosäurentrennungen mit Salpetersäure-Eluenten

Aus diesem Grund wird vom gepufferten Natriumacetat-System zu einem ungepufferten Salpetersäure-Eluenten übergegangen. Dieser liefert bei Elutionenkonzentrationen von 10 mmol/l bis 40 mmol/l pH-Werte im Bereich von 2,00 bis 1,39. Diese pH-Werte liegen für die meisten untersuchten Aminosäuren unterhalb der  $pK_S$ -Werte der Carbonsäuregruppen. Eine Veränderung der Analytladungen sollte demnach bei Variation der Elutionenstärke nicht beobachtet werden. Exemplarisch ist in Abbildung 6.70 die Abhängigkeit der Retentionsfaktoren von der Elutionenstärke unter Verwendung des **SB3**-Austauschers dargestellt.

In dieser Abbildung ist keine Krümmung der erhaltenen Geraden mehr erkennbar. Das Vorhandensein eines kationenaustauschchromatographischen Trennmechanismus ist somit eindeu-



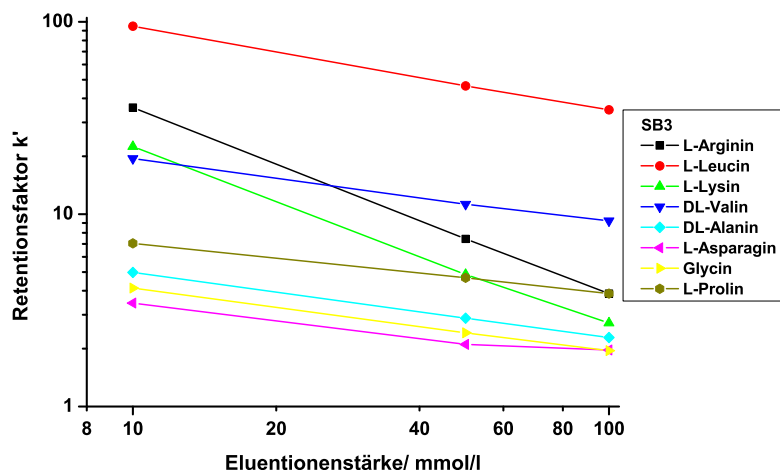


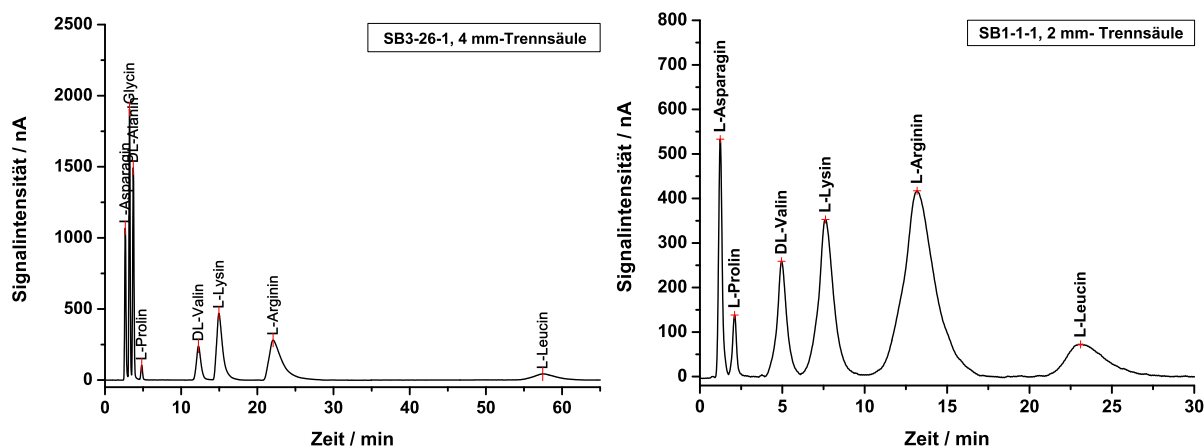
Abbildung 6.70: Doppeltlogarithmische Auftragung der Abhängigkeit der Aminosäurentrennung von der Eluentenkonzentration. Eluent: Salpetersäure, gepulste amperometrische Detektion, Trennsäule: **SB3-26-1**, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 2 mg/kg bis 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm.

tig bewiesen. Neben der Tatsache, dass für die gewählte Auftragung lineare Zusammenhänge erhalten werden, bestätigen auch die Steigungen der Geraden die getroffenen Aussagen. So liegen die Steigungswerte für die Ausgleichsgeraden der Analyten L-Leucin, DL-Valin, L-Prolin, DL-Alanin, Glycin und L-Asparagin sehr dicht zusammen. Die Steigung der Geraden in dieser Auftragung korreliert mit dem Ladungsverhältnis zwischen Analyt-Ionen und Eluent-Ionen. Die Aminosäuren L-Arginin und L-Lysin hingegen weisen Steigungswerte auf, die gerade doppelt so groß sind wie die der übrigen Analyten. Da es sich bei diesen beiden Aminosäuren um die basischen Aminosäuren mit zwei Aminfunktionalitäten handelt, wäre im Rahmen der Kationenaustauschchromatographie genau dieser Unterschied in den Steigungen zu erwarten gewesen.

Es kann somit gezeigt werden, dass die untersuchten zwitterionischen Austauscher unter ZIC-Bedingungen in der Lage sind, Aminosäuren über einen kationenaustauschchromatographischen Trennmechanismus zu retardieren. Die Erklärung dieses Effekts ist bislang jedoch noch nicht gelungen. Besonders die zuvor durchgeführten Untersuchungen bezüglich der Ausbildung von *Donnan*-Membranen im Rahmen der Anionentrennung erschweren die Erklärbarkeit. Werden zwitterionische Sulfobetain-Austauscher mit stark sauren Eluenten eingesetzt, sollte eigentlich deren Anionentrennfähigkeit gesteigert werden. Die Fähigkeit, Kationen zu retardieren, sollte hingegen – aufgrund der starken abschirmenden Effekte durch  $H^+$  – nahezu ausgeschaltet werden. Dennoch gelingt mit sauren Eluenten die gezeigte Trennung der  $\alpha$ -Aminosäuren in ihrer kationischen Form. Es bleibt an dieser Stelle nur zu vermuten, dass die Aminosäuren, durch ihre speziellen ampholytischen Eigenschaften, Einfluss auf die Ausbildung der *Donnan*-Membranen nehmen. Eine nähere Untersuchung des beobachteten Effektes wird im Rahmen dieser Arbeit

nicht durchgeführt. Es wäre aber denkbar, dem Eluenten bei der Durchführung von Anionentrennungen definierte Konzentrationen an Aminosäuren als „Modifizier“ zuzusetzen. Hierdurch sollte sich der Einfluss von Aminosäuren auf die Ausbildung der *Donnan*-Membranen bzw. auf die Anionentrennleistung zwitterionischer Sulfobetain-Austauscher untersuchen lassen.

Zum Abschluss der Aminosäuretrennungen werden noch zwei Chromatogramme von Mischstandards unter Einsatz zweier zwitterionischer Trennsäulen aufgenommen. Als Austauscher werden hierfür die Materialien **SB3-26-1** (4 mm i. D.) und **SB1-1-1** (2 mm i. D.) eingesetzt. Die Chromatogramme sind in Abbildung 6.71 gegenübergestellt.



Abbildungung 6.71: Trennung von Aminosäuregemischen mithilfe zweier zwitterionischer stationärer Phasen. Eluent: 10 mmol/l Salpetersäure, gepulste amperometrische Detektion, Flussrate: 1,0 ml/min (links), 0,4 ml/min (rechts), Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 2 mg/kg bis 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l (links), 5  $\mu$ l (rechts), Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (links), 2 mm  $\times$  100 mm (rechts), Trennsäule: **SB3-26-1** (links), **SB1-1-1** (rechts).

Diese beiden Chromatogramme sollen verdeutlichen, dass gute Aminosäuretrennungen unter Verwendung zwitterionischer stationärer Phasen bereits durch minimale Optimierung und über unterschiedliche Herangehensweisen möglich sind. So ist im linken Teil der Abbildung eine Trennung von acht  $\alpha$ -Aminosäuren mithilfe des Austauschers **SB3-26-1** (4 mm i. D.) innerhalb von 60 min gezeigt. Das **SB3**-Material hat sich im Rahmen der systematischen Eluentvariationen unter Verwendung der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher für Aminosäuretrennungen als besonders geeignet dargestellt. Die kaum optimierte Trennung liefert sehr gute Peakformen, weist jedoch einen unerwünscht großen Selektivitätsunterschied zwischen L-Leucin und den übrigen Aminosäuren auf. Würde man die willkürliche Auswahl an  $\alpha$ -Aminosäuren abwandeln, wäre auch die Trennung einer größeren Anzahl an Analyten innerhalb von etwa 30 min möglich.

Um der Problematik von großen Selektivitätsunterschieden zu entgegnen, bietet der hergestellte

Satz von Austauschern mit unterschiedlichen Abständen zwischen den Ladungen jedoch noch weitere Möglichkeiten. Dies ist im rechten Teil der Abbildung 6.71 dargestellt. Zwar werden in diesem Chromatogramm innerhalb von 30 min nur sechs Aminosäuren getrennt, dies ist jedoch in erster Linie auf die breiten Signale mit schlechten Bodenzahlen zurückzuführen. Bei dem gezeigten Material **SB1-1-1** handelt es sich um eine der ersten hergestellten Trennsäulen der Dimension  $2\text{ mm} \times 100\text{ mm}$ . Trennsäulen dieser Größe zeigen meist problematische Peakformen mit niedrigen Bodenzahlen. Ein Grund hierfür liegt in der Tatsache begründet, dass weiterhin Partikel mit mittleren Durchmessern von  $5\text{ }\mu\text{m}$  für das Packen von Trennsäulen kleinerer Innendurchmesser eingesetzt werden.

Generell soll anhand dieses Chromatogramms lediglich gezeigt werden, dass z. B. durch die Verwendung eines eigentlich weniger gut geeigneten Austauschers (vgl. **SB1** aus der homologen Reihe in Abbildung 6.68) mit erhöhter Kapazität dennoch Trennungen erreicht werden können, die nicht die Problematik großer Selektivitätsunterschiede aufweisen. Während das **SB3**-Material für L-Leucin eine um mehr als 100% erhöhte Retentionszeit gegenüber L-Arginin aufweist, liegt der Unterschied für den Austauscher **SB1-1-1** deutlich niedriger.

Die durchgeführten Untersuchungen liefern somit zum einen sehr interessante und bislang nicht literaturbekannte Trennungen mit zwitterionischen Austauschern. Zudem darf jedoch nicht vernachlässigt werden, dass die homologe Reihe an Austauschern unter der Prämisse vergleichbarer Kapazitäten angefertigt wurde. Ein weites Feld für zukünftige Untersuchungen liegt demnach in der Überprüfung der Zusammenhänge zwischen der Austauscherkapazität eines Ladungsabstands und den Trennleistungen bezogen auf diverse Trennprobleme. Auf diese Weise könnten interessante und neuartige Selektivitäten erzeugt werden.

### 6.7.4 Retention von RP-HPLC-Analyten

Nachdem erfolgreich die Trennung anorganischer Ionen sowie kleiner organischer Ionen gezeigt werden konnte, richtet sich die Arbeit nunmehr auf die Trennung größerer – nicht zwingend polarer – organischer Analyten aus. Bei dieser Analytgruppe handelt es sich um die üblicherweise mittels HILIC und ZIC-HILIC untersuchten Substanzen. Mit Blick auf die später durchzuführenden Trennungen unter ZIC-HILIC-Bedingungen soll jedoch zunächst der Einfluss sekundärer Wechselwirkungen auf die Retention klassischer HPLC-Analyten untersucht werden. Sekundäre Wechselwirkungen, d. h. hydrophobe Interaktionen, wie z. B. Van-der-Waals-Wechselwirkungen, können grundsätzlich zwischen unpolaren stationären Phasen und minderpolareren organischen Analyten auftreten.

Fraglich ist nun, ob und inwieweit das unpolare PS/DVB-Grundgerüst der eingesetzten zwitterionischen Austauscher zur Ausbildung sekundärer Wechselwirkungen mit weniger polaren Analyten befähigt ist. Ein Wissen über derartige Wechselwirkungen ist im Übergang zu ZIC-HILIC-Bedingungen von entscheidender Bedeutung. Kommt es z. B. zwischen polaren organischen Analyten mit unpolaren Resten und der stationären Phase zur Ausbildung nennenswerter sekundärer Wechselwirkungen im Rahmen von ZIC-HILIC-Trennungen, können die daraus resultierenden Beobachtungen nicht mehr für die Erklärung der ZIC-HILIC-Trennmechanismen herangezogen werden. Derartige Beobachtungen würden sich immer auf einen Mixed-Mode-Trennmechanismus beziehen.

Die Pffropfpolymerisation zwitterionischer Gruppen auf das PS/DVB-Grundmaterial sollte dieses prinzipiell ausreichend polar gemacht haben. Dies ist bereits an den Suspensionseigenschaften funktionalisierter und unfunktionalisierter PS/DVB-Partikel zu erkennen. Während unfunktionalisiertes PS/DVB sich in Wasser nicht suspendieren lässt, sondern aufschwimmt, kann mit zwitterionischen Gruppen funktionalisiertes Material problemlos in Reinstwasser suspendiert werden.

Dennoch sollen die möglichen sekundären Wechselwirkungen genauer untersucht und gegebenenfalls quantifiziert werden. Zu diesem Zweck werden klassisch in der RP-HPLC verwendete Analyten eingesetzt. Die RP-HPLC ist grundsätzlich zur Trennung unpolarer organischer Verbindungen geeignet. Diese zeigen in Anwesenheit unpolarer stationärer Phasen hohe Retentionszeiten, während organische Säuren wie z. B. Acetylsalicylsäure – abhängig vom pH-Wert – kaum retardiert werden. Auf polaren stationären Phasen sollten im Idealfall keine Wechselwirkung mit unpolaren Analyten zu beobachten sein.

Um diese näher zu untersuchen und zu verifizieren, wird Paracetamol als klassischer HPLC-Analyt gewählt. Paracetamol weist – trotz seiner geringen Polarität – dennoch eine nennenswerte Löslichkeit in Wasser auf. Es eignet sich daher, bei ausreichender Verdünnung, ideal für den

Einsatz in rein wässrigen Eluentensystemen. Als Eluent kommt diesmal eine Natriumperchloratlösung der Konzentration 40 mmol/l bei einem pH-Wert von 8,40 zum Einsatz. Die pH-Pufferung wird durch den Zusatz von 5 mmol/l Natriumphosphat erreicht. Der Eluent soll sich später gut für den Einsatz mit der UV-Detektion eignen, da die UV-Absorption von Natriumperchlorat deutlich niedriger ist, als die von Natriumacetat. Auf die Einsatzmöglichkeit von Perchlorateluents im Rahmen von ZIC-HILIC-Trennungen wird unter Punkt 6.8.3 noch näher eingegangen. In Abbildung 6.72 sind Chromatogramme eines Paracetamolstandards auf allen untersuchten Austauschermaterialien gegenübergestellt.

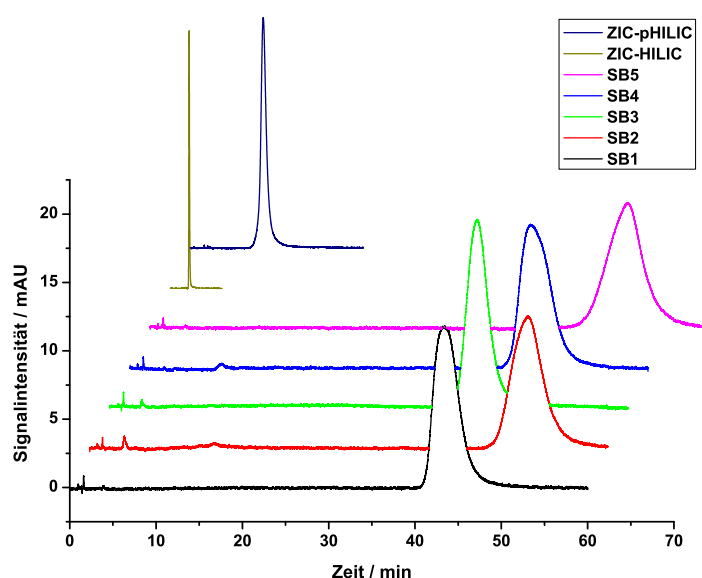


Abbildung 6.72: Retention von Paracetamol unter wässrigen Bedingungen. Eluent: 40 mmol/l  $\text{NaClO}_4$ , pH 8,40, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm.

Alle stationären Phasen auf PS/DVB-Basis liefern hohe Retentionszeiten für Paracetamol im Bereich von 42,5 min bis 55,3 min. Es kommt offensichtlich zu nennenswerten sekundären Wechselwirkungen. Elektrostatische Wechselwirkungen mit den funktionellen Gruppen der zwitterionischen Austauscher können aufgrund der Struktur des Paracetamols ausgeschlossen werden. Die Retention kann somit nur auf hydrophobe Wechselwirkungen zwischen Analyt und Grundmaterial zurückgeführt werden. Die Signalformen und -breiten für diese sekundären Wechselwirkungen sind dennoch bei allen Austauschern akzeptabel.

Deutlich fallen im oberen Bereich der Abbildung 6.72 die geringeren Retentionszeiten der kommerziellen Trennsäulen auf. Zwar erzeugt das polymere Material auf Methacrylatbasis (ZIC-pHILIC) noch eine Retentionszeit von 8,4 min, diese liegt jedoch bereits weit unterhalb der

Retentionszeiten der PS/DVB-Austauscher. Das kieselgelbasierte Material ZIC-HILIC zeigt für Paracetamol sogar eine Elution nahe am Totvolumen. Dies ist der eigentlich erwartete Fall für polare Trägermaterialien. Für die Polarität des gesamten Trägermaterials ist neben der funktionellen Gruppe jedoch offensichtlich auch das Grundmaterial von entscheidender Bedeutung.

Speziell bei der Retention von Paracetamol – einem Phenolderivat – bietet das PS/DVB-Grundgerüst Angriffsfläche für  $\pi$ - $\pi$ -Wechselwirkungen. Diese erklären auch die hohen Retentionszeiten bei der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher. Entscheidender, als die Frage nach der Anwesenheit sekundärer Wechselwirkungen in rein wässrigen Eluentensystemen, ist jedoch die Frage, ob es durch Zugabe eines organischen Modifiers zum Eluenten zu einer Reduktion oder gar Aufhebung der sekundären Wechselwirkungen kommt.

Bei den gezeigten sekundären Wechselwirkungen handelt es sich allgemein ausgedrückt um RP-Wechselwirkungen. Diese sollten – analog zur RP-HPLC – durch Absenkung der Polarität der mobilen Phase zurückgedrängt werden. ZIC-HILIC-Trennungen werden bei Acetonitrilgehalten von 60% bis 90% durchgeführt. Solange bei diesen hohen Modifieranteilen keine RP-Wechselwirkungen beobachtet werden können, sind diese auch unproblematisch in Bezug auf die Nutzung der Ergebnisse zur Erklärung von Retentionsmechanismen.

Daher sind in Abbildung 6.73 für alle untersuchten Austauscher die Auftragungen der Retentionsfaktoren von Paracetamol, Colchicin und Ampicillin gegen den Acetonitrilanteil zusammengefasst.

Paracetamol und Colchicin stellen unter diesen Analyten die Beispiele für klassische HPLC-Analyten dar. Beide Moleküle verfügen über aromatische Systeme und tragen keine leicht ionisierbaren Gruppen (Carbonsäuren, Amine). Sie liegen also grundsätzlich ungeladen vor und können so hydrophobe Wechselwirkungen eingehen. Ampicillin – ein  $\beta$ -Lactam-Antibiotikum – stellt zwar auch ein großes organisches Molekül dar, es trägt jedoch sowohl ein primäres Amin, als auch eine Carbonsäuregruppe. Dieser Analyt dient letztlich als Bindeglied für ZIC-HILIC-Analyten. Unter wässrigen Bedingungen sollte es zu hydrophoben Wechselwirkungen kommen, während unter HILIC-Bedingungen hydrophile Wechselwirkungen mit der stationären Phase und damit ebenfalls Retention möglich sein sollten.

Bei Betrachtung der Graphen ist zunächst klar ersichtlich, dass die kommerziellen Austauscher von den Retentionsfaktoren her zumindest um eine Größenordnung unterhalb der PS/DVB-Materialien liegen. Erwartungsgemäß verändert sich die Retentionszeit von Paracetamol unter Verwendung der ZIC-HILIC-Trennsäule mit steigendem Modifieranteil nur marginal. Für den ZIC-pHILIC-Austauscher werden bereits deutlichere Effekte beobachtet, die stärksten Retentionsfaktorabnahmen treten jedoch bei den PS/DVB-Austauschern auf.

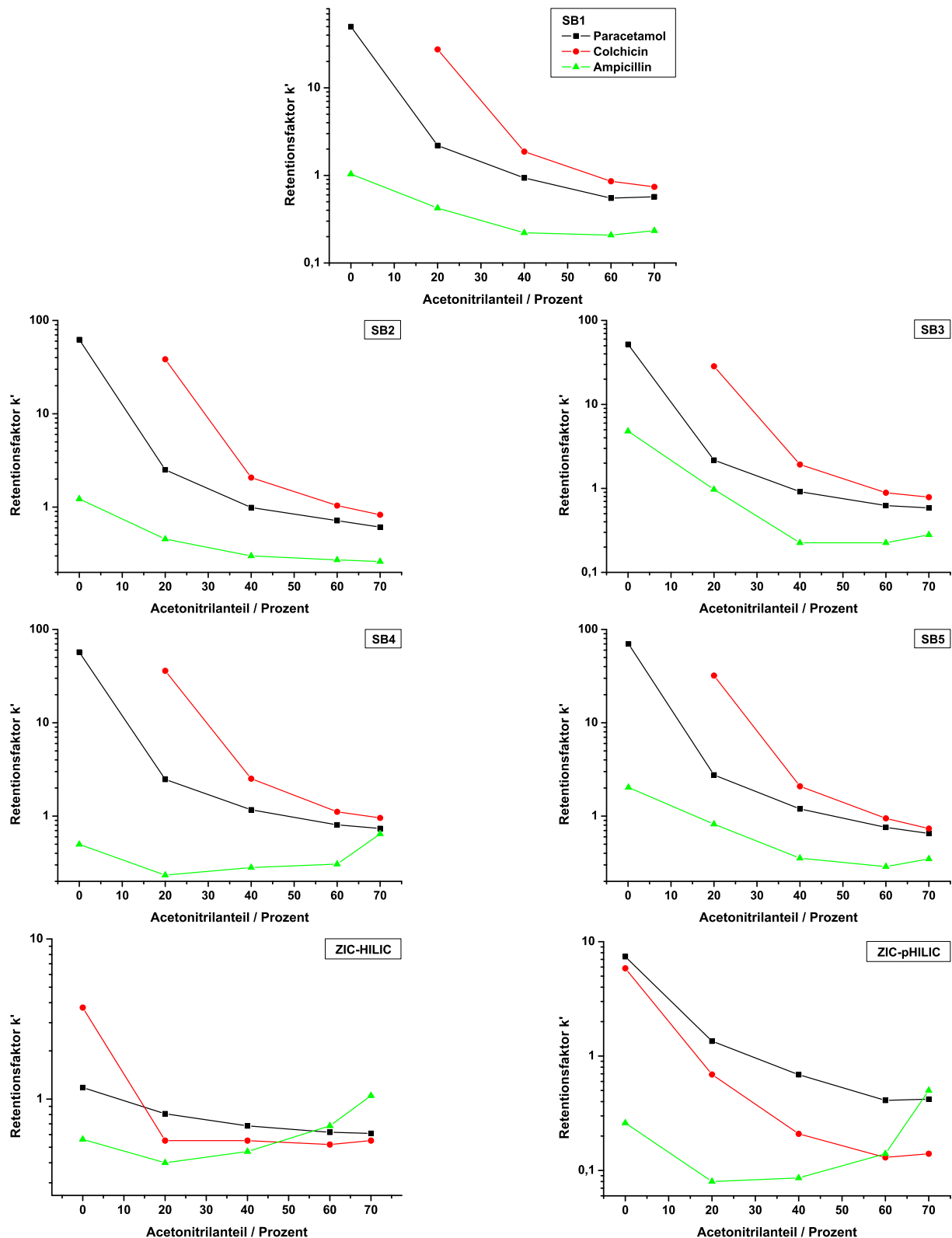


Abbildung 6.73: Einfluss des Modifiziergehalts auf die Retention von HPLC-Analyten, die Ordinaten-Achse ist logarithmisch aufgetragen. Eluent: 40 mmol/l  $\text{NaClO}_4$ , pH 8,40, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

Die Skalierung der Ordinaten-Achse aller Graphen wurde bewusst logarithmisch gewählt. Dadurch kann der Verlauf der Retentionszeitenabnahme besser beurteilt werden. Zudem sind auf diese Weise auch Veränderungen der Retentionsfaktoren für Ampicillin bei höheren Acetonitrilanteilen erkennbar. Ein dritter Grund für die Skalierung liegt in dem erwarteten Retentionsmechanismus. Unter Punkt 2.3.2 wurden Retentionsmodelle zur Beschreibung von HPLC-Trennungen vorgestellt. Eine Auftragung von  $\log k'$  gegen den Modifieranteil sollte – im Falle des bloßen Vorliegens von RP-Mechanismen – zu linearen Zusammenhängen führen. Dies ist für alle Austauscher nicht der Fall. Adsorptive Wechselwirkungen würden für die Auftragung von  $\log k'$  gegen den Logarithmus des Modifieranteils zu linearen Zusammenhängen führen. Auch dies wird jedoch nicht beobachtet. Mechanistisch betrachtet, handelt es sich bei der Retention der HPLC-Analyten somit offensichtlich um gemischte Effekte, wobei sowohl die Verteilungs- als auch die Adsorptionschromatographie eine Rolle spielen.

Entscheidender als eine mechanistische Aufklärung ist jedoch die Frage nach der Stärke der sekundären Wechselwirkungen. Die kommerziellen Austauscher liefern im ZIC-HILIC-Bereich (ab 60% Acetonitrilanteil) für die HPLC-Analyten Retentionsfaktoren von unter eins. Aufgrund der starken Abfälle der Retentionsfaktoren auf den PS/DVB-Materialien, liefern auch alle hergestellten zwitterionischen Austauscher bei einem Acetonitrilanteil von 60% Retentionsfaktoren zwischen eins und zwei. Durch den Zusatz des organischen Modifiers können die sekundären Wechselwirkungen also effektiv auf ein vernachlässigbares Maß reduziert werden. Die unter ZIC-HILIC-Bedingungen zu erwartenden Ergebnisse sollten somit weitestgehend unabhängig von diesen unerwünschten Wechselwirkungen sein.

Betrachtet man abschließend die Retentionsfaktoren des Ampicillins, welches unter HILIC-Bedingungen retardiert werden sollte, sind besonders für die kommerziellen Austauscher Steigerungen der Retentionsfaktoren ab Acetonitrilanteilen von 40% bis 60% zu erkennen. Einige der hergestellten Austauscher zeigen ebenfalls beginnende Anstiege der Retentionsfaktoren bei Acetonitrilanteilen von 70% (**SB3**, **SB4**, **SB5**). Diese Anstiege erfolgen jedoch zum einen später, als bei den kommerziellen Materialien, zum anderen sind sie nicht so steil. Auf die ZIC-HILIC-Trennfähigkeiten der hergestellten Austauscher soll jedoch erst unter Punkt 6.8 näher eingegangen werden.

Es konnte also gezeigt werden, dass die hergestellten zwitterionischen Austauscher auf PS/DVB-Basis zur Ausbildung recht starker sekundärer Wechselwirkungen führen. Diese können jedoch durch die Steigerung des Modifieranteils effektiv minimiert werden.



### 6.7.5 Trennung aromatischer Carbonsäuren

Um den Einfluss sekundärer Wechselwirkungen für die späteren ZIC-HILIC-Trennungen näher abschätzen zu können, werden auch die übrigen ZIC-HILIC-Analyten zunächst unter rein wässrigen Bedingungen untersucht. Neben anorganischen Anionen kommen später Flavonoide sowie Carbonsäuren als Analyten zum Einsatz.

Besonders starke Wechselwirkungen unter rein wässrigen Bedingungen können jedoch für aromatische Carbonsäuren beobachtet werden. Bei den hierfür eingesetzten Säuren handelt es sich um Phthalsäure, 4-Hydroxybenzoesäure, Acetylsalicylsäure und Salicylsäure. Einige physikalisch-chemische Eigenschaften dieser aromatischen Carbonsäuren sind in Tabelle 6.13 zusammengefasst.

Tabelle 6.13: Physikalisch-chemische Daten der vier untersuchten aromatischen Carbonsäuren<sup>[151][148][152]</sup>.

Carbonsäure	Wasserlöslichkeit / g/l	pK <sub>s</sub> COOH	log p <sub>OW</sub>
Phthalsäure	5,7	2,95/5,41	0,73
4-Hydroxybenzoesäure	5,0	4,61	1,58
Acetylsalicylsäure	3,3	3,49	1,19
Salicylsäure	2,0	2,75	2,26

Im Gegensatz zu den übrigen aromatischen Carbonsäuren handelt es sich bei der Phthalsäure um eine Dicarbonsäure. Sie besitzt daher zwei pK<sub>s</sub>-Werte. Die 4-Hydroxybenzoesäure und die Salicylsäure unterscheiden sich lediglich in ihrem Substitutionsmuster, die Acetylsalicylsäure stellt den Essigsäureester der Salicylsäure dar. Die Strukturformeln der vier aromatischen Carbonsäuren sind in Abbildung 6.74 wiedergegeben.

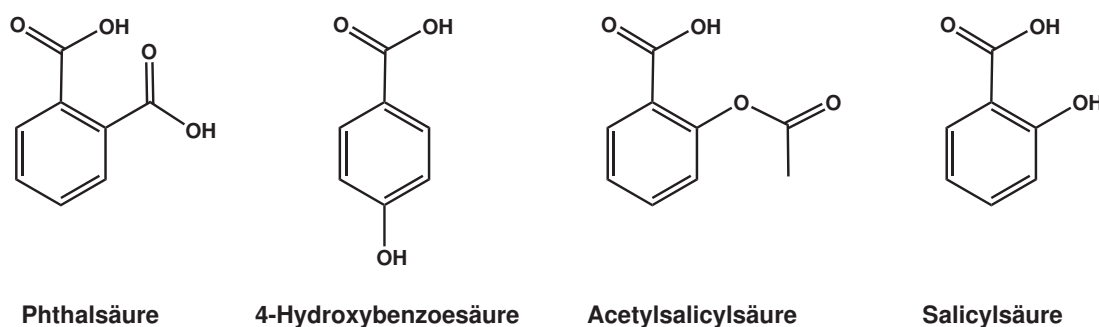


Abbildung 6.74: Strukturen der untersuchten aromatischen Carbonsäuren.

Die angegebenen log p<sub>OW</sub>-Werte in Tabelle 6.13 geben bereits einen ersten Aufschluss darüber, dass drei der untersuchten Carbonsäuren besser in Oktanol als in Wasser löslich sind, was sich durch Werte, die größer als eins sind, äußert. Die Salicylsäure, mit einem log p<sub>OW</sub>-Wert von 2,26

ist sogar über 20 Mal besser in Oktanol als in Wasser löslich. Lediglich die Phthalsäure ist aufgrund des Vorhandenseins zweier Säuregruppen etwas besser in Wasser als in Oktanol löslich. Die Hydrophilie ist jedoch deutlich geringer als bei anorganischen Salzen. Mit Ausnahme der Acetylsalicylsäure gehen die Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten ( $\log p_{OW}$ -Werte) mit der Wasserlöslichkeit der Carbonsäuren einher.

Die Retention, die bei Trennung der aromatischen Carbonsäuren unter rein wässrigen Bedingungen beobachtet wurde, wird auf sekundäre Wechselwirkungen der Analyten mit der stationären Phase zurückgeführt. Es sollte sich also – analog zu den klassischen HPLC-Analyten – um hydrophobe Wechselwirkungen handeln. Um so hydrophober die Carbonsäure, desto höher sollte ihre Retention sein. Um dies zu überprüfen, sind in Abbildung 6.75 die Chromatogramme aller untersuchten Austauscher unter Verwendung des bereits eingesetzten Natriumperchlorat-Eluenten bei pH 8,40 dargestellt.

Wie zu erwarten war, liefern auch für diese Trennungen die kommerziellen Trennsäulen die niedrigsten Retentionszeiten. Das ZIC-HILIC-Material auf Kieselgelbasis zeigt sogar nur eine Antrennung der vier Carbonsäuren nahe am Totvolumen. Das unpolarere Methacrylat-Grundmaterial ermöglicht zumindest eine Trennung aller vier Analyten. Nochmals deutlich höhere Retentionszeiten werden jedoch für die Austauscher mit PS/DVB-Grundmaterialien erzielt. Auf allen hergestellten Sulfobetainaaustauschern ist eine Basislinientrennung der vier aromatischen Carbonsäuren möglich.

Dennoch sind – in Abhängigkeit der Kettenlängen – deutliche Unterschiede in den Selektivitäten der Austauscher zu erkennen. So eluieren das dritte und vierte Signal (Acetylsalicylsäure und Salicylsäure) auf dem Austauscher **SB3** recht dicht zusammen, wohingegen der Austauscher **SB5** – bei vergleichbarer Retentionszeit der Acetylsalicylsäure – eine deutlich höhere Retentionszeit für die Salicylsäure bewirkt. Die Abstände der Ladungen scheinen somit – sogar bei Trennungen über sekundäre Wechselwirkungen – einen Einfluss auf die Selektivitäten zu haben.

Die grundlegende Elutionsreihenfolge ist hingegen auf den stationären Phasen **SB1** bis **SB5** gleich. Immer eluiert Phthalsäure vor 4-Hydroxybenzoesäure, gefolgt von Acetylsalicylsäure und Salicylsäure. Mit Blick auf die Wasserlöslichkeiten der vier Carbonsäuren aus Tabelle 6.13 ist diese Elutionsreihenfolge gut erklärbar. Bei den  $\log p_{OW}$ -Werten besteht leider bezüglich der Acetylsalicylsäure eine gewisse Diskrepanz. Diese sollte eine höhere Hydrophilie als die 4-Hydroxybenzoesäure aufweisen, die Wasserlöslichkeit hingegen ist niedriger.

Die Problematik hierbei ist wohl in den  $\log p_{OW}$ -Werten zu suchen. Zwar existieren ausführliche Tabellen mit Oktanol-Wasser-Verteilungskoeffizienten diverser Reinsubstanzen, die Bestimmung dieser Werte ist jedoch problematisch. Allein bezüglich der Acetylsalicylsäure existieren

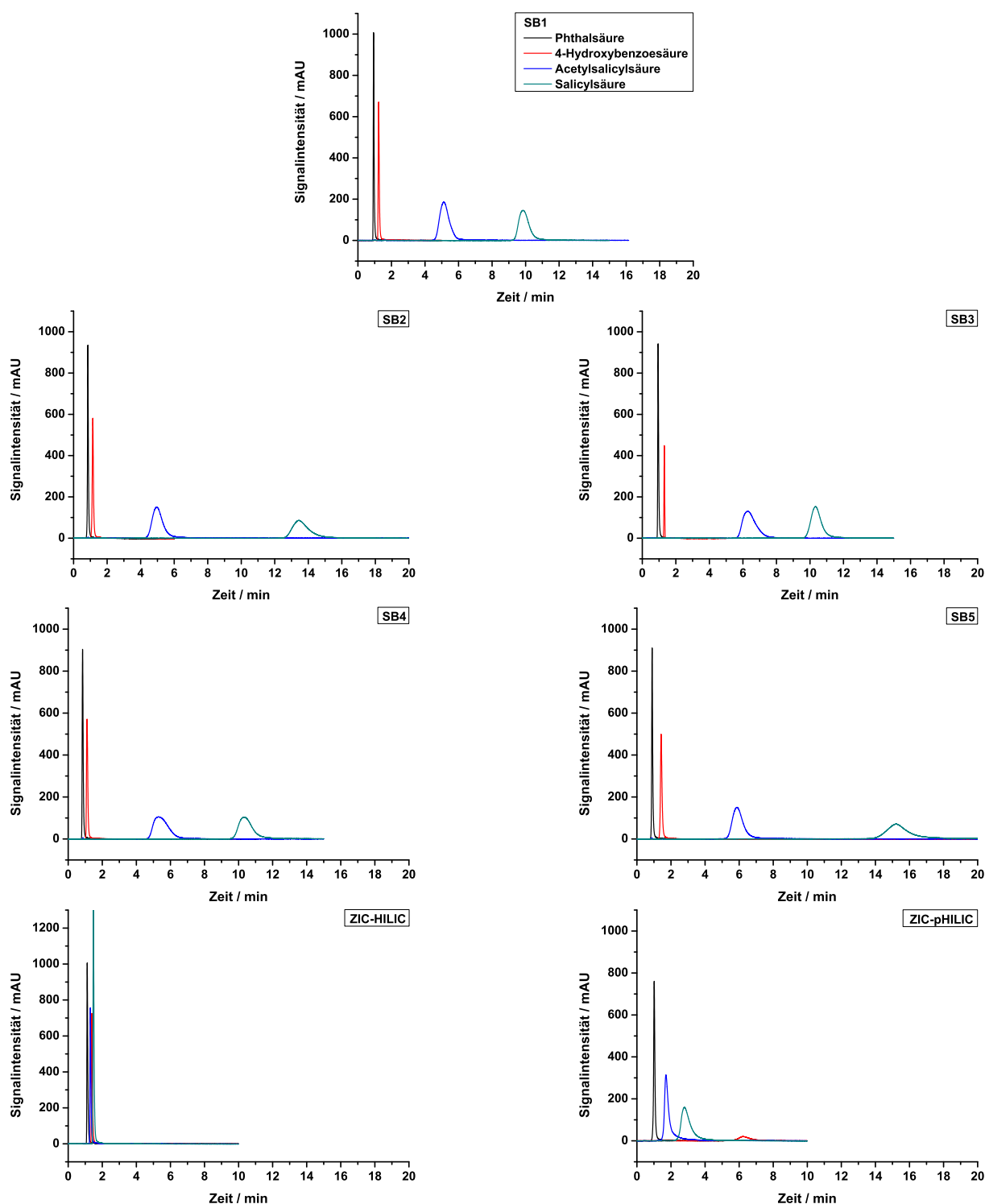


Abbildung 6.75: Trennungen der aromatischen Carbonsäuren unter rein wässrigen Bedingungen. Eluent: 40 mmol/l  $\text{NaClO}_4$ , pH 8,40, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 1,0 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Proben-schleife: 20  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

in der Datenbank<sup>[152]</sup> 31 Einträge mit  $\log p_{OW}$ -Werten zwischen -2,57 und 1,46. Es können unterschiedliche analytische Methoden bei verschiedenen pH-Werten eingesetzt werden, was zu einem breiten Spektrum an Werten führt. Oktanol/Wasser-Verteilungskoeffizienten können also zur groben Abschätzung der Hydrophilien verwendet werden, sind jedoch prinzipbedingt fehlerbehaftet.

Trotz dieser kleinen Diskrepanz der Werte erscheint die Elutionsreihenfolge – insbesondere mit Blick auf die Wasserlöslichkeiten – sinnvoll. Die deutlich veränderte Elutionsreihenfolge der ZIC-pHILIC-Trennsäule hingegen rührt offensichtlich von Einflüssen der stationären Phase – genauer genommen des Grundmaterials – her. 4-Hydroxybenzoesäure wird auf diesem Material überproportional stark retardiert. Eine Selektivitätsumkehr trotz gleicher funktioneller Gruppe wie beim SB3-Austauscher ist unwahrscheinlich. Es muss somit zu zusätzlichen – die Retention verstärkenden – Wechselwirkungen zwischen Methacrylat-Grundmaterial und der 4-Hydroxybenzoesäure kommen.

Um sicherzustellen, dass es sich bei der beobachteten Retention tatsächlich um hydrophobe Wechselwirkungen handelt, werden die aromatischen Carbonsäuren mit steigenden Acetonitrilanteilen getrennt. Die Ergebnisse sollten analog zu den Ergebnissen der Trennung von HPLC-Analyten ausfallen. Die Auftragungen der Retentionsfaktoren gegen die Modifizieranteile sind in Abbildung 6.76 gegenübergestellt.

Besonders die PS/DVB-basierten Austauscher **SB1** bis **SB5** zeigen bei Steigerung des Modifiziergehaltes auf 20% bereits eine deutliche Abnahme der Retentionsfaktoren um etwa eine Größenordnung. Auch eine weitere Steigerung der Modifiziergehalte auf 40% bewirkt eine weitere Retentionszeitverkürzung. Ab Acetonitrilanteilen von 60% bis 70% kommt es dann wieder zu Anstiegen der Retentionsfaktoren. Die kommerziellen Austauscher zeigen die erwarteten niedrigen Retentionsfaktoren, wobei das ZIC-pHILIC-Material ebenfalls eine deutliche Reduktion der Retentionsfaktoren bei einem Modifiziergehalt von 20% aufweist.

Die hohen Retentionszeiten der aromatischen Carbonsäuren unter rein wässrigen Bedingungen werden demnach durch sekundäre Wechselwirkungen hervorgerufen. Analog zu den Ergebnissen der HPLC-Analyten ergeben sich bei Auftragung von  $\log k'$  gegen den Modifizieranteil keine linearen Zusammenhänge, ebenso nicht bei doppeltlogarithmischen Auftragungen. Die Retentionsmechanismen, die für die Trennung der aromatischen Carbonsäuren verantwortlich sind, lassen sich somit ebenfalls nicht klar in Adsorptions- oder Verteilungschromatographie einteilen.

Die in Abbildung 6.76 gezeigten Auftragungen stellen bereits den Übergang zu ZIC-HILIC Trennungen dar. Bisher konnte gezeigt werden, dass mit den hergestellten zwitterionischen

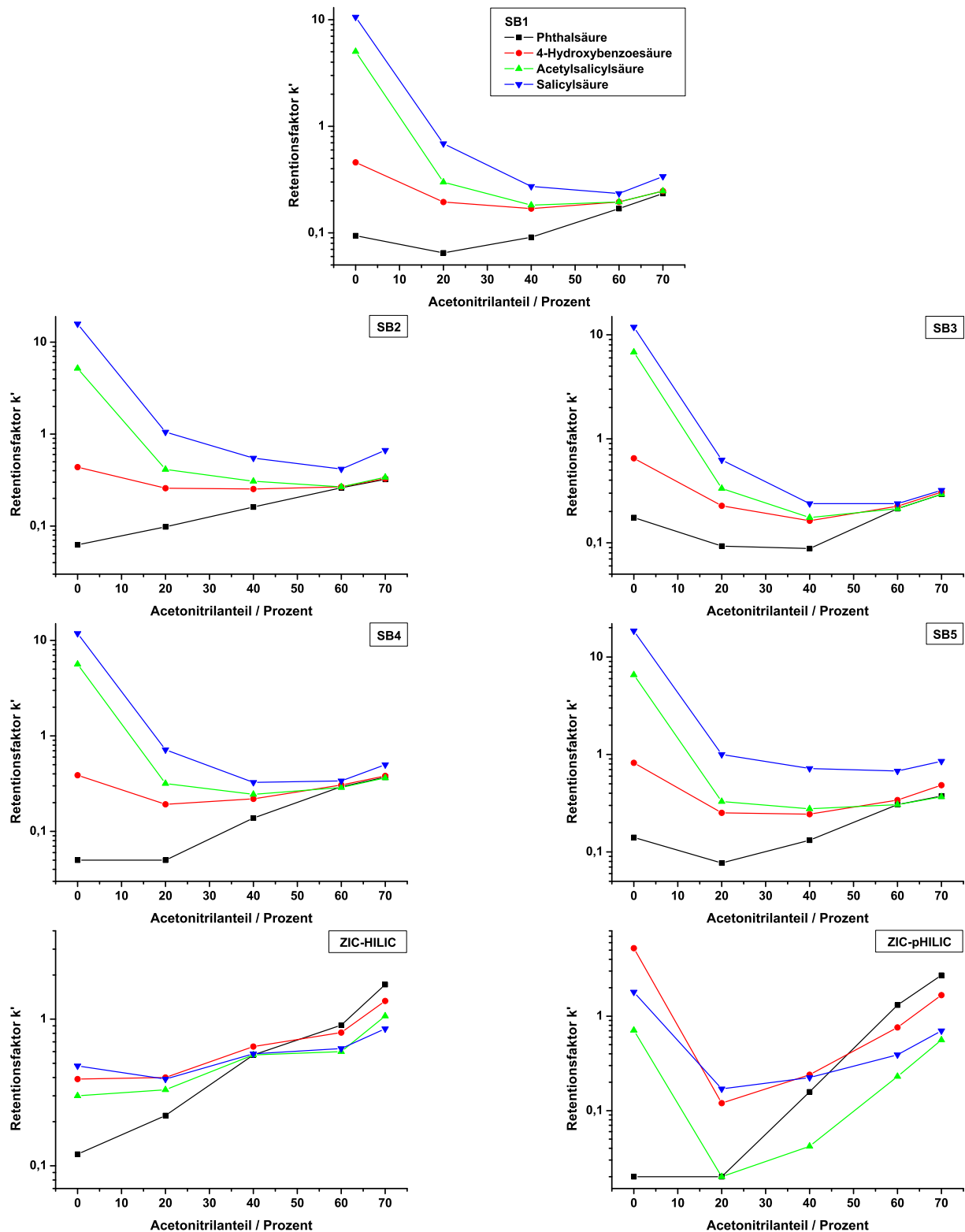


Abbildung 6.76: Trennungen der aromatischen Carbonsäuren mit steigenden Modifiziergehalten. Eluent: 40 mmol/l  $\text{NaClO}_4$ , pH 8,40, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Proben-schleife: 20  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

Austauschern unter rein wässrigen Bedingungen Anionentrennungen nach dem ZIC-Mechanismus, Aminosäurentrennung nach kationenaustauschchromatographischen Mechanismen, sowie Trennungen aromatischer Carbonsäuren über sekundäre Wechselwirkungen möglich sind. Zwitterionische stationäre Phasen sind jedoch besonders für den Einsatz in ZIC-HILIC-Trennungen interessant, da unter diesen Bedingungen Polaritätsverhältnisse wie in der Normalphasen-HPLC erzielt werden können, ohne die Probleme der NP-HPLC mit sich zu bringen.

## 6.8 Chromatographische Charakterisierung unter HILIC-Bedingungen

Im weiteren Verlauf der Arbeit wird das Retentionsverhalten diverser Analyten beim Übergang von wässrigen zu HILIC-Bedingungen, und insbesondere unter Variation der Eluent-Zusammensetzung unter HILIC-Bedingungen, untersucht. Als Analyten kommen anorganische Anionen, Carbonsäuren sowie Flavonoide zum Einsatz.

### 6.8.1 Modifizierstabilität der stationären Phasen

Um die generelle Einsetzbarkeit der hergestellten Austauscher für HILIC-Trennungen beurteilen zu können, müssen jedoch zunächst Informationen über die Modifiervträglichkeit und Stabilität der Austauscher gesammelt werden. Aussagen über die Stabilität der kovalenten Anbindung der funktionellen Gruppen können bereits getroffen werden. So wurden alle für die HILIC eingesetzten stationären Phasen vor dem Packen mit reinem Acetonitril gewaschen. Trotz dieser, recht aggressiven Reinigungsmethode, konnte im Rahmen von Anionentrennungen unter rein wässrigen Bedingungen (siehe Punkt 6.7.2) Retention beobachtet werden. Die kovalente Anbindung der zwitterionischen Moleküle ist demnach ausreichend stabil, um Trennungen unter ZIC-HILIC-Bedingungen zu ermöglichen.

Neben der Stabilität der kovalenten Bindung spielt jedoch auch die Lösungsmitteltoleranz des Packungsbetts eine entscheidende Rolle. Unter Anwesenheit organischer Lösungsmittel neigen PS/DVB-Materialien grundsätzlich zu Quelleffekten. Diese fallen, je nach eingesetztem Lösungsmittel, mehr oder weniger stark aus. Fraglich ist nun, ob solche Quelleffekte – unter Anwesenheit von Acetonitril als Modifier – das Packungsbett beeinflussen. Neben der rein qualitativen Betrachtung der Peakformen und Bodenzahlen unter HILIC-Bedingungen, kann auch der Staudruck der Trennsäulen bei Variation des Modifiiergehaltes erste Aufschlüsse bezüglich der Lösungsmittelstabilität der Packungsbetten geben.

Hierzu werden die Staudrücke unter – bis auf die Modifiziergehalte – gleichbleibenden chromatographischen Bedingungen bestimmt. Als Eluenten kommen Natriumacetatlösungen mit pH-Werten von 4,75 und sinkenden Elutionenstärken zum Einsatz. Die Mischung der Eluenten erfolgt über ein Hochdruckgradientensystem aus zwei HPLC-Pumpen (siehe Punkt 7.9.2). Die wässrige Phase wird im Hochdruckbereich mit reinem Acetonitril gemischt. Durch die unterschiedlichen Elutionenstärken der wässrigen Phase werden in den Gemischen konstante Ionenstärken von 40 mmol/l erreicht. In Abbildung 6.77 sind die Staudrücke aller untersuchten Trennsäulen unter konstanten Bedingungen – d. h. bei Verwendung von Natriumacetat-Eluenten gleicher pH-Werte, gleicher Gesamtionenstärken, einer Flussrate von 0,55 ml/min, einer Säulentemperatur von 318 K sowie veränderlichen Modifizieranteilen – gegenübergestellt.

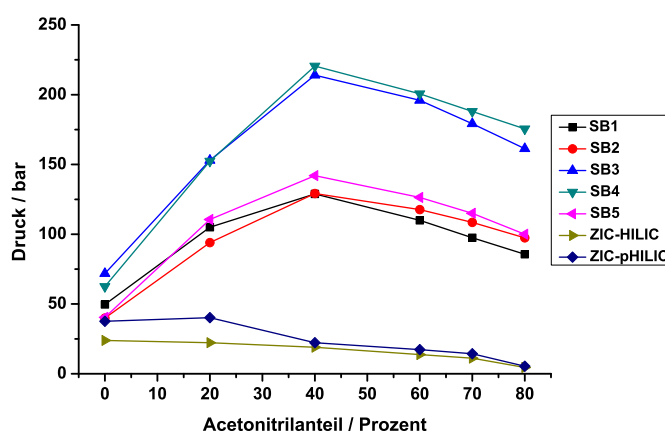


Abbildung 6.77: Auftragung der Staudrücke der untersuchten Austauscher in Abhängigkeit des Acetonitrilanteils. Eluent: 40 mmol/l NaOAc, pH 4,75, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,55 ml/min, Temperatur: 318 K, Säulendimension: 4 mm × 100 mm (4,6 mm × 100 mm für die kommerziellen Austauscher).

Während alle Austauscher unter rein wässrigen Bedingungen noch moderate Staudrücke von maximal 72 bar liefern, sind bei Steigerung des Acetonitrilanteils auf 20% bereits deutliche Unterschiede zwischen den stationären Phasen zu erkennen. Die niedrigsten Staudrücke ergeben sich für die kommerziellen Austauscher. Diese zeigen sich vom Modifiziergehalt quasi unbeeindruckt und liefern bei höheren Acetonitrilanteilen sogar noch sinkende Staudrücke. Für alle PS/DVB-Materialien kommt es bei Zusatz des organischen Modifiers zunächst zu einem Anstieg der Staudrücke. Hierbei können die Austauscher in zwei Gruppen eingeteilt werden. Die Materialien **SB1**, **SB2** und **SB5** liefern mittlere Staudrücke bis maximal 150 bar, die Austauscher **SB3** und **SB4** hingegen zeigen Staudruckanstiege bis zu 230 bar.

Die Gründe für dieses Verhalten können zwar analytisch nicht geklärt werden, es kann jedoch eine Korrelation zu den unter Punkt 6.7.2 gewonnenen Ergebnissen vermutet werden. Bei der Anionentrennung unter rein wässrigen Bedingungen zeigten die Materialien **SB3** und **SB4** ein

sehr ähnliches Verhalten bei Variation der Elutionenstärke, welches sich jedoch von den typischen ZIC-Materialien unterschied. Als Erklärung wurde eine höhere lokale Kapazität oder die Ausbildung stabiler innerer Ionenpaare aufgrund eines ausreichend großen Abstands zwischen den funktionellen Gruppen dieser stationären Phasen herangezogen.

Die Gesamtkapazität der Austauscher – die auch mittels elemetaranalytischer Verfahren bestimmt werden konnte – ist bei allen fünf hergestellten Sulfobetain-Phasen vergleichbar. Dennoch könnten Unterschiede in den lokalen Kapazitäten bestehen. Dies würde sich mit den Beobachtungen der Staudrücke decken. Unterschiedliche Staudrücke können von unterschiedlichen Belegungsarten hervorgerufen werden. Im Falle der ppropfpolymerisierten Materialien wurde ein *Coating* der Grundkörper bereits diskutiert und ausgeschlossen.

Dennoch konnte unter Punkt 6.2.3 gezeigt werden, dass die zwitterionischen Monomere auch zur Ausbildung von Homopolymerkettten fähig sind. Unter Punkt 6.7.2.1 wurde unter anderem vermutet, dass die Besonderheiten der Materialien **SB3** und **SB4** bei Variation der Elutionenstärke im Rahmen von Anionentrennungen auf die Anbindung von Homopolymerkettten an das Trägermaterial und damit verbundene hohe lokale Kapazitäten zurückzuführen sind. Eine solche Belegungsart würde zu einem hohen räumlichen Platzbedarf der Homopolymerkettten – insbesondere bei Zusatz von Modifiern – führen und damit die hohen Staudrücke erklären.

Andererseits könnte aber auch die Auflösung anfänglich gebildeter innerer Ionenpaare eine solche Staudruckerhöhung bewirken. Die Phasen **SB3** und **SB4** könnten – wie ebenfalls unter Punkt 6.7.2.1 dargelegt – besonders stabile innere Ionenpaare bilden, die während des Packprozesses eine dichtere Packung der Materialien in den Trennsäulen bewirken. Bei Zusatz organischen Modifiers zum Eluenten werden die intramolekularen Wechselwirkungen zurückgedrängt und die sich aufstellenden funktionellen Gruppen erhöhen durch ihren erhöhten Platzbedarf die Staudrücke. Aufgrund der ursprünglich vorhandenen, besonders stabilen inneren Ionenpaare fällt dieser Effekt beim **SB3**- und **SB4**-Material stärker aus, als bei den übrigen PS/DVB-Austauschern. Die Untersuchungen der Staudrücke sind somit ebenso wie die Anionentrennung unter ZIC-Bedingungen nicht geeignet, das abweichende Verhalten der Phasen **SB3** und **SB4** auf einen der beschriebenen Erklärungsansätze zurückzuführen.

Bezogen auf die Stabilität der Packungsbetten liefert die Untersuchung der Staudrücke jedoch wertvolle Informationen. So werden beim langsamen Übergang von wässrigen zu HILIC-Bedingungen hohe Staudrücke – hervorgerufen durch Quelleffekte – beobachtet. Die Packungsbetten leiden grundsätzlich unter derartigen Quellvorgängen mit anschließender Schrumpfung. Ab einem Acetonitrilanteil von 60% verändern sich die Staudrücke mit steigenden Modifiergehalten jedoch nur noch leicht.

Für einen routinemäßigen Einsatz zwitterionischer Austauscher auf PS/DVB-Basis bietet es sich



also an, die Materialien nach dem Packen (meist unter wässrigen Bedingungen) schnell auf HILIC-Bedingungen zu bringen und im Anschluss auch nicht wieder für wässrige Trennungen einzusetzen. Hierdurch wird der Einfluss des Quellens mit hohen Staudrücken bei mittleren Modifizieranteilen minimiert.

Im Rahmen dieser Arbeit werden die Trennsäulen **SB1-5-1**, **SB2-11-1**, **SB3-26-1**, **SB4-8-1** und **SB5-4-1** generell nur für wässrige Trennungen eingesetzt. Die Säulen **SB1-5-2**, **SB2-11-2**, **SB3-26-2**, **SB4-8-2** und **SB5-4-2** werden unter Verwendung von Acetat- und Perchlorat-Eluenten für den langsamen Übergang von wässrigen zu HILIC-Bedingungen verwendet, und im Anschluss – nach erneutem Packen – nur noch für Trennungen im HILIC-Bereich genutzt.

### 6.8.2 Anionentrennungen

Im Übergang von wässrigen Bedingungen zu HILIC-Trennungen können zunächst die Retentionsfaktoren für Anionentrennungen untersucht werden. Als Eluent kommen Natriumacetatlösungen bei pH 4,75 zum Einsatz, die Gesamtionenstärke wird konstant bei 40 mmol/l gehalten. Anionentrennungen werden deshalb untersucht, weil unter wässrigen Bedingungen bereits ein umfangreiches Wissen über deren Trennverhalten gesammelt werden konnte. Zu den klassischen HILIC-Analyten können anorganische Anionen jedoch nicht gezählt werden, wenngleich Anwendungsbeispiele für deren Trennung unter ZIC-HILIC-Bedingungen existieren<sup>[73]</sup>.

Bevor jedoch die ersten Trennungen mit Eluentvariation durchgeführt werden, ist es analog zu den aromatischen Carbonsäuren sinnvoll, physikalisch-chemische Daten der Anionen zu ermitteln. In Bezug auf die aromatischen Carbonsäuren (siehe Punkt 6.7.5) hat sich neben den  $\log p_{ow}$ -Werten die Betrachtung der Wasserlöslichkeiten als gutes Mittel zur Beurteilung der Trennselektivitäten dargestellt. In Bezug auf anorganische Anionen sollten insbesondere auch die Hydratationsenthalpien einen Aufschluss über die Affinität zu einer Wasserphase geben. Hydratationsenthalpien beschreiben den Betrag an Energie der frei wird, wenn ein Mol eines Ions in eine unendlich verdünnte wässrige Phase gebracht und dabei hydratisiert wird. Um so größer die frei werdende Energie, desto größer die Affinität zur wässrigen Phase. In Tabelle 6.14 sind daher die Wasserlöslichkeiten der Analytsalze und die Hydratationsenthalpien für die untersuchten Anionen zusammengefasst.

Im Rahmen der Trennung aromatischer Carbonsäuren unter wässrigen Bedingungen, die auf hydrophoben Wechselwirkungen beruhten, gingen hohe Retentionszeiten mit niedrigen Wasserlöslichkeiten einher. Bezüglich der Anionen fällt bei Betrachtung der Tabelle 6.14 jedoch zunächst die Diskrepanz zwischen den Wasserlöslichkeiten und den Hydratationsenthalpien auf. Für die Beurteilung der Affinität zu einer wässrigen Phase sollten jedoch die Hydratationsenthalpien eher entscheidend sein<sup>[154]</sup>. Wasserlöslichkeiten sind nämlich neben der Hydratationsenthalpie

Tabelle 6.14: Physikalisch-chemische Daten der untersuchten anorganischen Analyten. Die Hydratationsenthalpien beziehen sich nur auf die Anionen<sup>[151][153][148]</sup>.

Analyt	Wasserlöslichkeit / g/l	Hydratationsenthalpie / kJ/mol	pK <sub>s</sub>
Natriumbromid	905	-360	-9
Natriumnitrat	874	-380	-1,32
Natriumnitrit	820	-314	3,29
Natriumiodid	1793	-320	-10
Natriumthiocyanat	1250	-310	-1,28

noch von der Gitterenergie des entsprechenden Salzes abhängig. Diese hat jedoch keinerlei Einfluss auf die Hydratation der Ionen. Im folgenden Verlauf der Arbeit sollen also primär die Hydratationsenthalpien berücksichtigt werden.

### 6.8.2.1 Modifizierabhängigkeit der Anionentrennung

Für den ZIC-HILIC-Bereich werden für anorganische Anionen – im Gegensatz zum genannten ZIC-Mechanismus – Trennungen erwartet, die eher über eine Verteilung der Analyten zwischen polarer stationärer und unpolarer mobiler Phase, als über elektrostatische Wechselwirkungen mit den Anionenaustauscherfunktionen, verlaufen. Für diese Trennungen sollten also die Hydratationsenthalpien entscheidend sein. Erwartet wird eine höhere ZIC-HILIC-Retention bei betragsmäßig höheren Hydratationsenthalpien (frei werdende Energie bedingt negative Vorzeichen).

Die Auftragung der Retentionsfaktoren der Anionen gegen den Modifizieranteil sollte diesbezüglich Klarheit schaffen. Für alle hergestellten Austauscher und die kommerziellen Trennsäulen sind diese Graphen in Abbildung 6.78 zusammengefasst.

Die Unterschiede in den Ordinaten-Skalierungen sind auf die bereits gezeigte Abhängigkeit der Anionenretention von den Ladungsabständen der stationären Phasen zurückzuführen. Unabhängig von den Skalierungen sind für alle Austauscher – einschließlich der kommerziellen Trennsäulen – mit Steigerung der Modifiziergehalte von 0% über 20% auf 40% abnehmende Retentionsfaktoren für die Anionen zu beobachten. Die zweifelsfrei vorhandenen ZIC-Wechselwirkungen werden also durch den Zusatz von Acetonitril zurückgedrängt. Besonders drastisch fällt dieser Effekt bei den stark retardierenden Austauschern **SB2** und **SB5** aus.

Ab Acetonitrilanteilen von 60% und mehr erfolgen jedoch wieder Anstiege der Retentionsfaktoren. Diese fallen z. B. beim Austauscher **SB2** sehr moderat aus, während die Materialien **SB3**, ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC deutlich ausgeprägtere Abhängigkeiten aufweisen. Generell kann

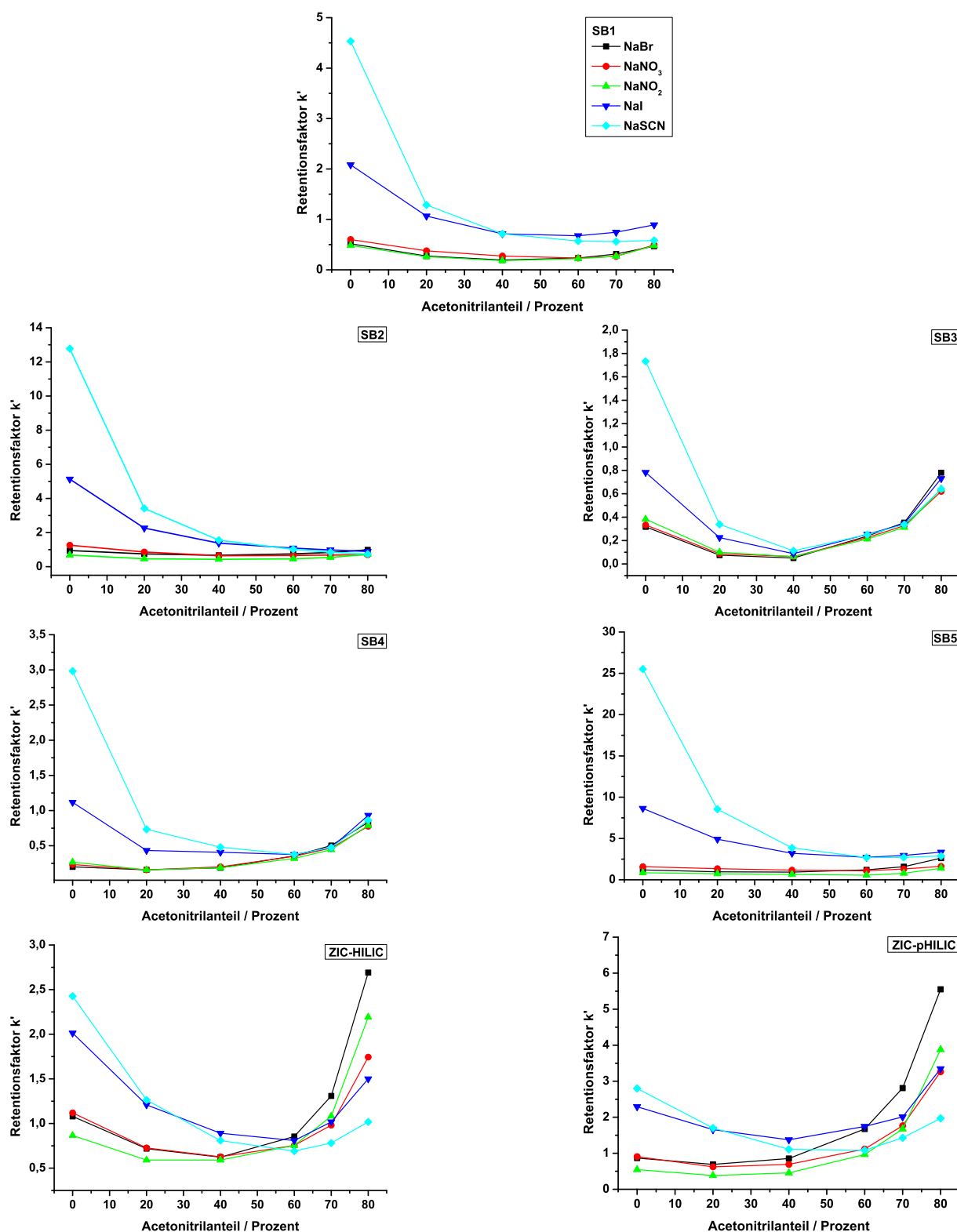


Abbildung 6.78: Trennungen anorganischer Anionen mit steigenden Modifiziergehalten. Eluent: 40 mmol/l Natriumacetat, pH 4,75, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Proben-schleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

aber festgestellt werden, dass für alle Austauscher im ZIC-HILIC-Bereich ein Retentionsmechanismus greift, der zu einer Erhöhung der Retentionszeiten führt. Diesbezüglich stellt sich nun die Frage nach der Natur dieses Retentionsmechanismus.

Unter rein wässrigen Bedingungen zeigten die meisten Austauscher das für die ZIC erwartete Bild. Die Selektivitäten der Anionentrennungen folgten dem Muster der chaotropen *Hofmeister-Reihe*<sup>[11]</sup>. So eluierten die Halogenidionen und das Pseudohalogenid Thiocyanat in der Reihenfolge Bromid, Iodid, Thiocyanat. Die chaotrope Reihe sortiert Anionen weitestgehend nach ihrer Polarisierbarkeit. Stark polarisierbare Anionen sind in der Lage, geordnete Wasserstoffbrückenbindungen in Wasser zu lösen und somit die Entropie zu erhöhen<sup>[64]</sup>. Sie können auf diese Weise die Hydratation der Austauschergruppen beeinflussen und daher stark mit diesen interagieren.

Beim Übergang zu ZIC-HILIC-Bedingungen ändern sich die Selektivitäten jedoch. Besonders gut ist dies in Abbildung 6.78 bei Betrachtung der Auftragungen für die Austauscher **SB3**, **SB5** sowie ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC zu erkennen. Der Analyt, anhand dessen diese Selektivitätsänderung am besten ausgemacht werden kann, ist Bromid. Während Bromid am Beispiel der **SB3**-Phase unter wässrigen Bedingungen zuerst eluiert, verschiebt sich dieses Bild bis hin zu 80% Modifizieranteil, so dass Bromid unter HILIC-Bedingungen als letzter Analyt die Trennsäule verlässt. Auch die Analyten Thiocyanat und Iodid wechseln auf allen Materialien ihre Retentionsreihenfolge. Besonders gut sind diese Effekte an den kommerziellen Austauschern zu erkennen. Der ZIC-HILIC-Austauscher zeigt sogar – bis auf das Paar Bromid/Nitrit – eine vollständige Selektivitätsumkehr.

Der Grund für diese Selektivitätsänderung muss in einer Veränderung der beteiligten Trennmechanismen liegen. Zum einen könnte der ursprüngliche Mechanismus eine grundlegende Veränderung erfahren, es könnte aber auch zu einer Überlagerung mit einem anderen Trennmechanismus kommen, wodurch letztlich die Veränderung der Selektivitäten hervorgerufen wird. Sollten die Trennungen weiterhin auf den chaotropen Eigenschaften der Analyten beruhen, also auf deren Fähigkeit, die Hydratation der funktionellen Gruppen in entropisch günstiger Weise zu beeinflussen, würde zunächst keine Veränderung der Selektivitäten erwartet werden. Die direkte Umgebung der stationären Phase ist schließlich immer noch wasserreich und unterscheidet sich somit kaum von der Umgebung unter ZIC-Bedingungen (siehe Punkt 2.5.3).

Die dennoch beobachtete Selektivitätsänderung könnte auf einer Überlagerung des chaotropen Mechanismus mit einem weiteren Mechanismus, wie z. B. einem hydrophilen Verteilungsgleichgewicht, beruhen. Betrachtet man die in Tabelle 6.14 gezeigten Hydratationsenthalpien, kann das Vorhandensein eines hydrophilen Verteilungsmechanismus besonders dann überprüft werden, wenn strukturell ähnliche Anionen direkt verglichen werden. In diesem Fall sind z. B. Bromid

und Iodid für einen solchen Vergleich geeignet. Bei beiden Ionen handelt es sich um Halogenide, die vollständig kugelsymmetrisch sind. Die Hydratationsenthalpie von Bromid liegt mit  $-360 \text{ kJ/mol}$  vom Betrag her deutlich höher als die von Iodid mit  $-320 \text{ kJ/mol}$ . Bromid weist demnach eine deutlich höhere Affinität zur wässrigen Phase auf.

Im Rahmen der ZIC-HILIC-Trennungen kann man von der Ausbildung einer quasi-stationären wässrigen Phase um die eigentliche stationäre Phase ausgehen. Aufgrund der höheren Affinität von Bromid zu dieser wässrigen Phase, wechselt die Elutionsreihenfolge von Bromid und Iodid auf beinahe allen untersuchten Austauschern. Ein Verteilungsmechanismus nach Hydrophilie tritt also zweifelsfrei ein. Die Selektivitätsveränderungen von Nitrit und Thiocyanat bestätigen diese Vermutung.

Betrachtet man hingegen Nitrat, mit einer Hydratationsenthalpie von  $-380 \text{ kJ/mol}$ , würde man eine stärkere als die beobachtete Retention erwarten. Der Grund hierfür kann sowohl in einer anderen geometrischen Erscheinung des Nitrats, oder aber in einer Überlagerung mit einem weiteren Retentionsmechanismus gesehen werden. Nicht unwahrscheinlich erscheint an dieser Stelle, dass neben der hydrophilen Partitionierung auch elektrostatische Wechselwirkungen zwischen den Analytionen und den funktionellen Gruppen der stationären Phase eine Rolle spielen.

Unabhängig davon, welcher der beiden Effekte für Nitrat zutrifft, kann in jedem Fall festgestellt werden, dass ZIC-HILIC-Trennungen anorganischer Anionen in erster Linie auf einer hydrophilen Partitionierung beruhen. Der in der ZIC vorherrschende chaotrope Trennmechanismus wird unter Zusatz des organischen Modifiers weitestgehend zurückgedrängt. Ein verminderter Einfluss entropischer Effekte ist bei den in der ZIC-HILIC vorliegenden Polaritätsverhältnissen auch nicht weiter verwunderlich.

Unter ZIC-HILIC-Bedingungen sind somit letztlich – wenn auch nur mit Retentionsfaktoren von maximal sechs – Anionentrennungen möglich, die z. T. ungewöhnliche und daher sehr interessante Selektivitäten hervorbringen. Chromatogramme aus überlagerten Signalen einzelner Anionen sind für alle untersuchten Trennsäulen in Abbildung 6.79 dargestellt.

Obwohl die hergestellten zwitterionischen Austauscher – insbesondere das **SB2**- und **SB5**-Material – unter ZIC-Bedingungen sehr gute Anionentrennleistungen aufwiesen, ermöglichen sie unter ZIC-HILIC-Bedingungen lediglich Antrennungen der Analytionen. Die kommerziellen Trennsäulen liefern hingegen gute Trennleistungen mit einer Basislinientrennung aller Anionen unter Verwendung des ZIC-HILIC-Austauschers. Dieser Vergleich bestätigt die Vermutung, dass der beobachtete Trennmechanismus anders geartet sein muss, als der Trennmechanismus der ZIC.

In der ZIC zeigte z. B. der **SB5**-Austauscher mit einer Retentionszeit von 15 min für Natriumthiocyanat eine um ein Vielfaches höhere Retention als die ZIC-pHILIC-Trennsäule (2,3 min für

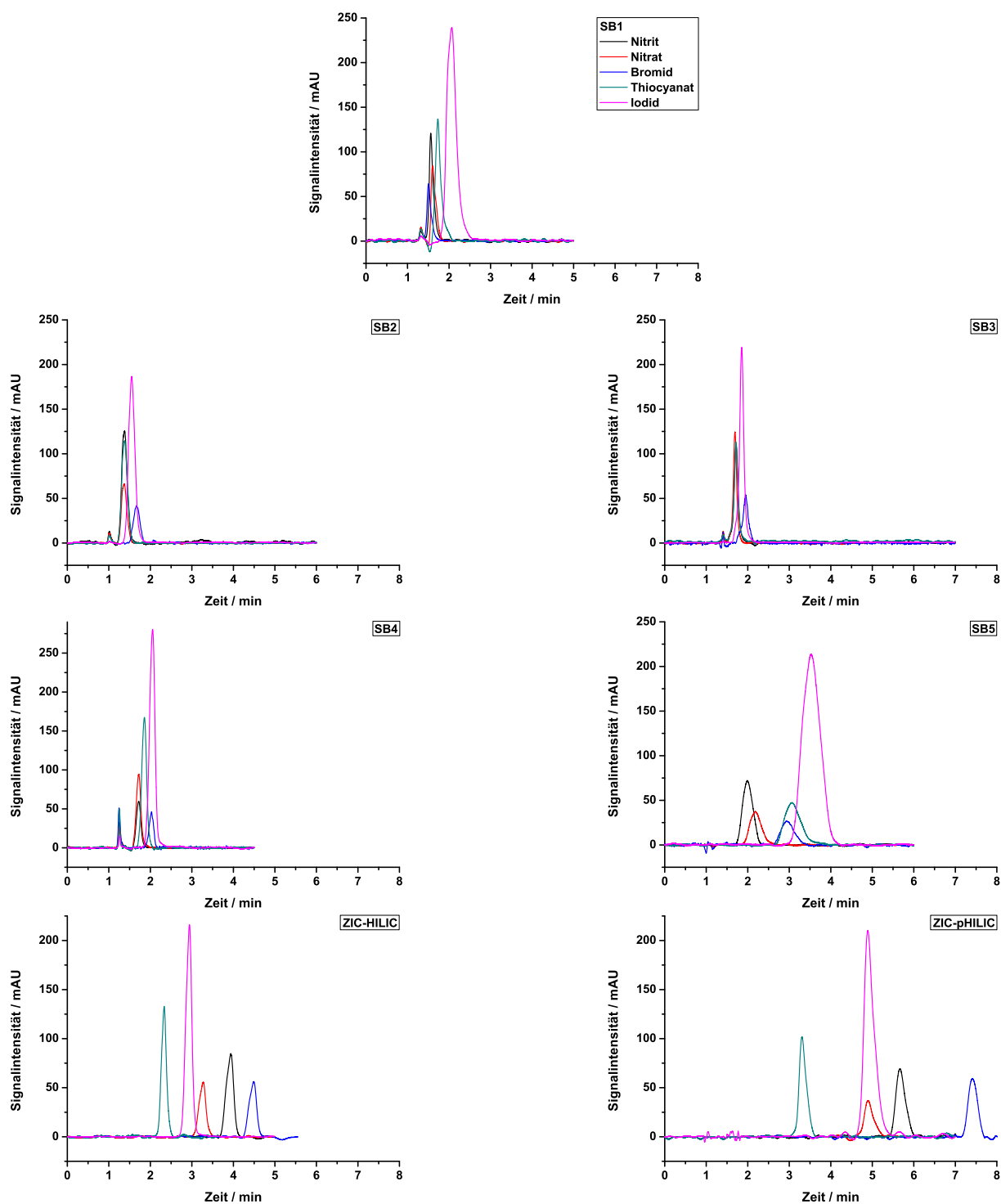


Abbildung 6.79: Chromatographische Trennungen anorganischer Anionen unter ZIC-HILIC-Bedingungen. Eluent: 60 mmol/l Natriumacetat, pH 4,75, 80% Acetonitril, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

Thiocyanat, siehe Abbildung 6.60). Unter ZIC-HILIC-Bedingungen hingegen liefert das ZIC-pHILIC-Material mit 7,4 min eine mehr als doppelt so hohe Retentionszeit für Bromid als der **SB5**-Austauscher.

Auch in Bezug auf die Trennleistungen zeigt sich also eine Umkehr der unter ZIC-Bedingungen gemachten Beobachtungen. Besonders im Vergleich mit dem **SB3**-Austauscher liefern die kommerziellen Trennsäulen trotz der gleichen verwendeten funktionellen Gruppen bessere ZIC-HILIC-Trennleistungen. Ein entscheidender Grund für dieses Verhalten könnte in der höheren Gesamtkapazität der kommerziellen Austauscher liegen.

Unter Punkt 6.7.2 wurde bereits vermutet, dass das unterschiedliche Verhalten der kommerziellen Austauscher im Vergleich zum **SB3**-Material auf einer höheren Austauschergruppendichte der ZIC-HILIC- und ZIC-pHILIC-Trennsäulen beruht. Unter ZIC-HILIC-Bedingungen ermöglicht eine nahe räumliche Anordnung der funktionellen Gruppen die Ausbildung einer homogenen wässrigen quasi-stationären Phase über die gesamte Austauscheroberfläche hinweg.

Bei den hergestellten PS/DVB-Austauschern wurde vermutet, dass die benachbarten funktionellen Gruppen so weit voneinander entfernt sind, dass sie unter ZIC-Bedingungen nicht zu intermolekularen Wechselwirkungen fähig waren. Unter ZIC-HILIC-Bedingungen führt dies dazu, dass es nicht zu einer homogenen Benetzung der stationären Phase mit einer quasi-stationären Wasserschicht kommt. Vielmehr bilden sich um die einzelnen, räumlich getrennten funktionellen Gruppen jeweils getrennte Hydrathüllen. Die ZIC-HILIC-Kapazitäten der PS/DVB-Austauscher sind folglich geringer als die der kommerziellen Materialien. Die ebenfalls als Erklärungsmöglichkeit für die besonderen ZIC-Trennungen der **SB3**- und **SB4**-Austauscher herangezogene Anbindung von Homopolymerketten versagt an dieser Stelle. Sie würde nämlich nur ein verändertes ZIC-HILIC-Retentionsverhalten für diese beiden Austauscher erklären. Die schlechteren Trennleistungen unter ZIC-HILIC-Bedingungen werden allerdings auf allen PS/DVB-Austauschern beobachtet. Im weiteren Verlauf der Arbeit wird daher die geringere Kapazität der hergestellten Austauscher mit größeren Abständen der Austauschergruppen als Erklärungsansatz favorisiert.

Die hergestellten zwitterionischen Austauscher auf PS/DVB-Basis sind also grundsätzlich für Trennungen unter ZIC-HILIC-Bedingungen einsetzbar, eine Steigerung der Austauscherkapazitäten dieser Materialien sollte deren ZIC-HILIC-Trennleistung jedoch deutlich verbessern.

### 6.8.2.2 Variation der Elutionenstärke

Nachdem die grundlegend ablaufenden Mechanismen und Problematiken geklärt sind, sollen die chromatographischen Eigenschaften der hergestellten Austauscher durch Variation der Elutionenstärke sowie des Eluent-pH-Werts näher untersucht werden. In Abbildung 6.80 sind die

Retentionsfaktoren der Anionen unter Verwendung aller sieben stationären Phasen gegen die Elutionenstärken aufgetragen.

Sehr interessant an dieser Abbildung ist die Tatsache, dass für viele Austauscher Kurvenverläufe beobachtet werden, die für die ZIC typisch wären. Grundsätzlich führt eine Erhöhung der Elutionenkonzentration bei allen Materialien zu einer Steigerung der Retentionsfaktoren. Diese zeigen für die Austauscher **SB1**, **SB2**, **SB3** und **SB5** Krümmungen, die auf Maximalwerte bei höheren Eluentkonzentrationen hindeuten. Mit den bisher getätigten Überlegungen zur ZIC-HILIC stehen diese Ergebnisse ebenfalls im Einklang. So sollte eine Erhöhung der Ionenstärke trotz Anwesenheit des organischen Modifiers zu einer Linearisierung der funktionellen Gruppen der stationären Phase führen. Dies verbessert wiederum die Ausbildung der quasi-stationären Wasserschicht, was zu einer Erhöhung der Verteilungskapazität der quasi-stationären Phase und damit zu einer Verbesserung der Trenneigenschaften führt. Bei vollständig linearisierten funktionellen Gruppen sollte auch in der ZIC-HILIC kein Effekt durch eine weitere Steigerung der Elutionenkonzentration mehr erkennbar sein.

Ein weiterer Grund für die Steigerung der Retentionsfaktoren mit steigender Elutionenstärke könnte darin liegen, dass die Erhöhung der Ionenstärke eine bessere Ausbildung der quasi-stationären Phase bewirkt. Ähnlich der Salzzugabe, die bei Flüssig/Flüssig-Extraktionen von wässrigen Phasen mit organischen Lösungsmitteln zu einer besseren Phasentrennung führt, kann auch hier die Ionenstärkeerhöhung zu einer besseren Phasentrennung und damit zu einer schärferen Ausbildung bzw. einer räumlichen Ausdehnung der quasi-stationären Wasserphase führen.

Eine nennenswerte Besonderheit stellt der Graph des **SB4**-Materials dar. Die Auftragung weist nicht nur eine Krümmung zu stärkeren Steigungen hin auf, sondern zeigt zudem noch eine drastische Selektivitätsveränderung des Bromid-Signals. Eine Umkehrung der Elutionsreihenfolge von Nitrit und Nitrat wird bei niedrigen Ionenstärken ebenfalls beobachtet. Alle anderen Austauscher – mit Ausnahme von Iodid und Nitrat auf der ZIC-pHILIC-Trennsäule – zeigen keine Selektivitätsveränderungen bei Variation der Ionenstärke.

Eine Selektivitätsänderung erfordert – wie bereits diskutiert – eine Änderung im Trennmechanismus. Bei niedrigen Ionenstärken tendiert der **SB4**-Austauscher, wie bereits gezeigt, zur Ausbildung stabiler innerer Ionenpaare. Sobald es zur Ausbildung stabiler innerer Ionenpaare kommt, ist die Ausbildung einer quasi-stationären Phase nicht mehr oder nur noch sehr begrenzt möglich. Der Retentionsmechanismus beruht demnach nicht mehr auf einer hydrophilen Verteilung, da keine quasi-stationäre Wasserphase mehr existiert. Für alle Anionen außer Bromid kommt es daher zu einer asymptotischen Annäherung an einen minimalen Retentionsfaktor. Diese Annäherung könnte dadurch hervorgerufen werden, dass ohne die quasi-stationäre Phase nur noch eine Retention über elektrostatische Wechselwirkungen möglich ist. Unter diesen Bedingungen



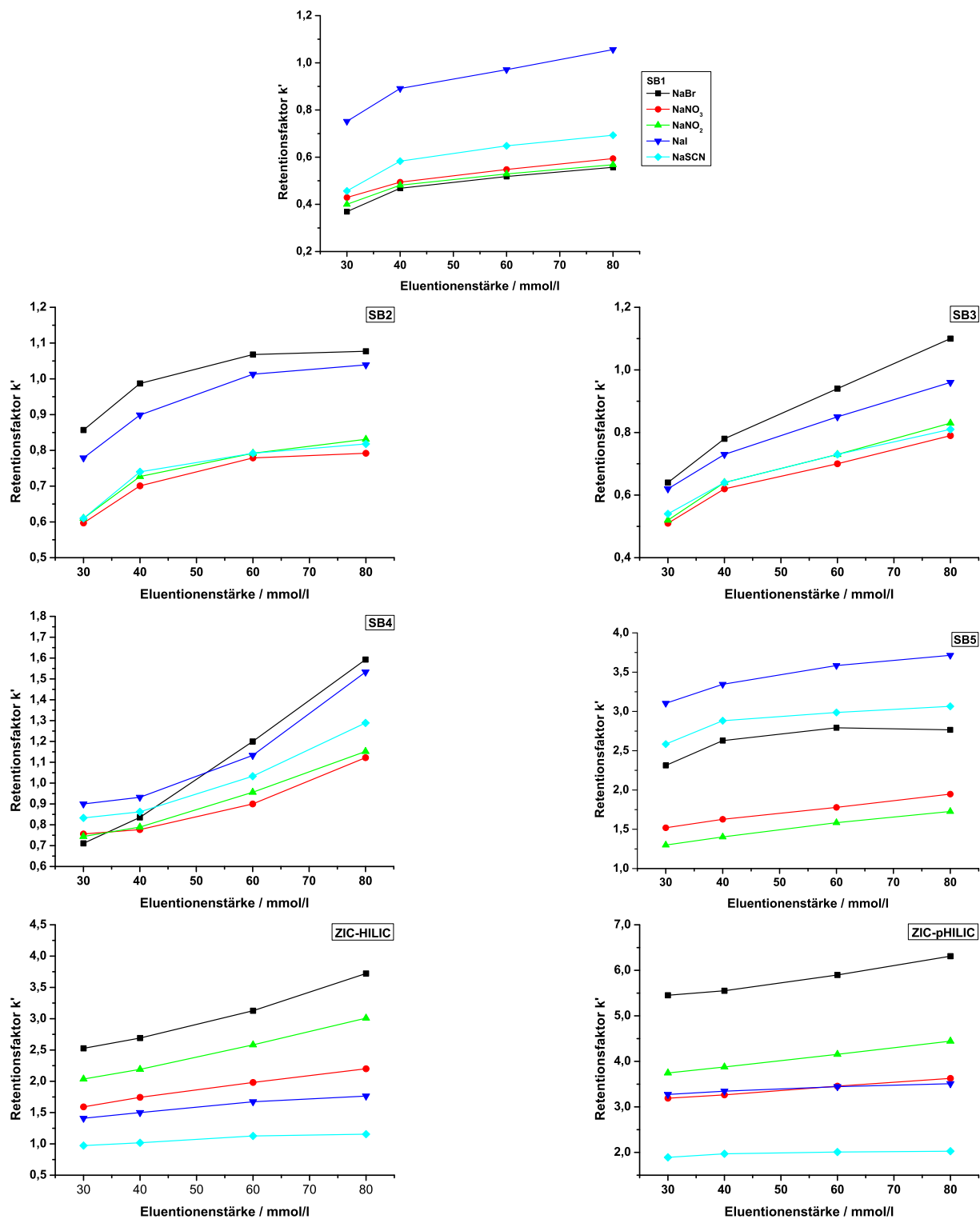


Abbildung 6.80: Abhängigkeiten der Retentionsfaktoren von der Elutionenstärke. Eluent: Natriumacetat, pH 4,75, 80% Acetonitril, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Proben-schleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

tendiert insbesondere das unter ZIC-Bedingungen kaum retardierte Bromid zu einer Reduktion der Retentionsfaktoren.

Diese Beobachtung bestärkt daher die getätigte Vermutung, dass die Anionentrennung unter ZIC-HILIC-Bedingungen Verteilungsmechanismen und elektrostatische Mechanismen kombiniert. Warum dieser Effekt ausgerechnet unter Verwendung des **SB4**-Materials auftritt liegt vermutlich an der Ausbildung sehr stabiler inneren Ionenpaare bei diesem Ladungsabstand.

Insgesamt kann aber festgestellt werden, dass die Variation der Elutionenstärke unter ZIC-HILIC-Bedingungen keine so deutlichen Unterschiede zwischen den Austauschern offenbart, wie die Ionenstärkevariation unter ZIC-Bedingungen.

### 6.8.2.3 Variation des Eluent-pH-Werts

Neben der Elutionenkonzentration wird auch noch der Eluent-pH-Wert variiert, um ein vollständiges Bild bezüglich der Anionentrennung unter ZIC-HILIC-Bedingungen zu erlangen. Die entsprechenden Auftragungen sind in Abbildung 6.81 dargestellt.

Mit Ausnahme des **SB5**-Austauschers zeigen alle Materialien Kurvenverläufe, die vergleichbar zu den Beobachtungen unter rein wässrigen Bedingungen sind (siehe Abbildung 6.63). Die für ZIC-Trennungen getroffenen Aussagen bezüglich der Anwesenheit und des Effekts von *Donnan*-Membranen gelten analog für ZIC-HILIC-Bedingungen. Die Tendenz der Graphen geht jedoch für alle Materialien, mit Ausnahme des **SB2**-Austauschers, in Richtung eines stärkeren Einflusses der Ionenstärke gegenüber der  $H^+$ -Konzentration. Dies ist aufgrund der unpolaren mobilen Phase auch zu erwarten. Die Besonderheit des **SB2**-Materials ist auch hier auf den idealen Ladungsabstand und die Inflexibilität der funktionellen Gruppen zurückzuführen.

Auch die Tatsache, dass die **SB5**-Trennsäule ein deutlich abweichendes Verhalten gegenüber den ZIC-Bedingungen zeigt, widerspricht dem nicht. Im Rahmen von ZIC-Untersuchungen wurde das außergewöhnliche Verhalten dieses Materials durch den sehr langen Abstand der funktionellen Gruppen und die dadurch bedingte Affinität der Sulfonsäuregruppe zur mobilen Phase erklärt. Diese Faktoren bewirkten eine tendenziell eher lineare Ausrichtung mit einem überwiegenden Einfluss der *Donnan*-Membranen bzw. der  $H^+$ -Konzentration. Bei den in der ZIC-HILIC vorliegenden Polaritätsverhältnissen ist es eher wahrscheinlich, dass die unpolaren Methylengruppen zwischen den Ladungen in Richtung mobiler Phase ragen. Dies bedingt einen verstärkten Einfluss der räumlichen Anordnung gegenüber elektronischen Effekten durch  $H^+$ .

Durch Erhöhung des pH-Wertes können folglich insbesondere die Retentionsfaktoren des **SB5**-Austauschers durch eine zunehmende Linearisierung der funktionellen Gruppen in konkurrenzfähige Regionen gebracht werden. Eine weitere Steigerung der Retentionsfaktoren sollte durch

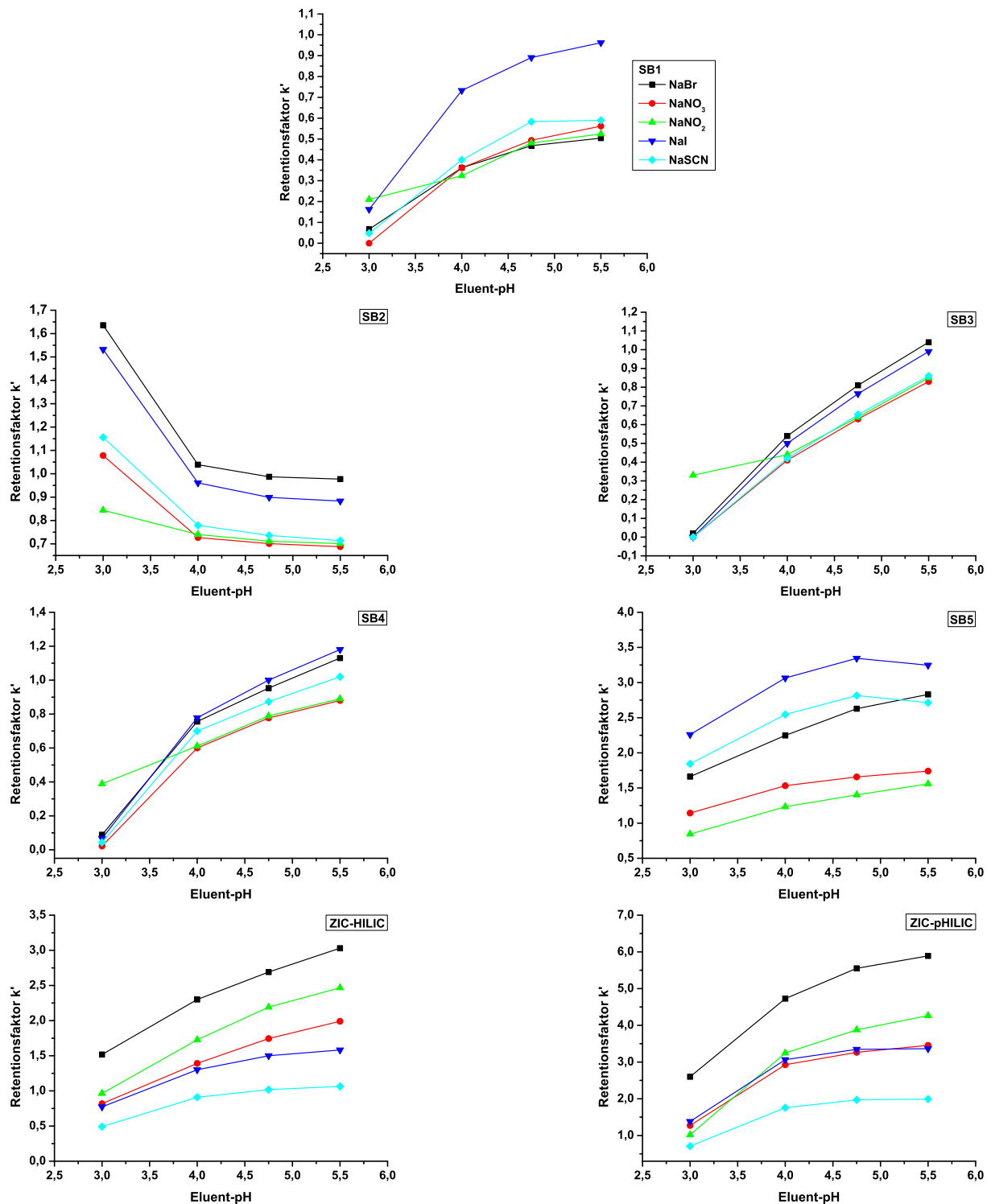


Abbildung 6.81: Abhängigkeiten der Retentionsfaktoren von dem pH-Wert des Eluenten. Eluent: 40 mmol/l Natriumacetat, 80% Acetonitril, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

Kombination der pH-Steigerung und einer Erhöhung der Elutionenstärke erreichbar sein. Doch bereits durch reine Steigerung der Elutionenkonzentration von 40 mmol/l auf 60 mmol/l kann eine Verbesserung der Retentionsfaktoren erreicht werden. Diese kommen damit in die Region der kommerziellen Trennsäulen.

Wie bereits erwähnt, können zudem die noch erweiterbaren Kapazitätsbereiche der hergestellten zwitterionischen Materialien leicht zu Steigerungen der Trennleistungen der PS/DVB-Austauscher führen. So kann unter Verwendung der höherkapazitiven **SB2-3-1**-Trennsäule (Dimension 2 mm × 100 mm) die in Abbildung 6.82 gezeigte Anionentrennung erreicht werden.

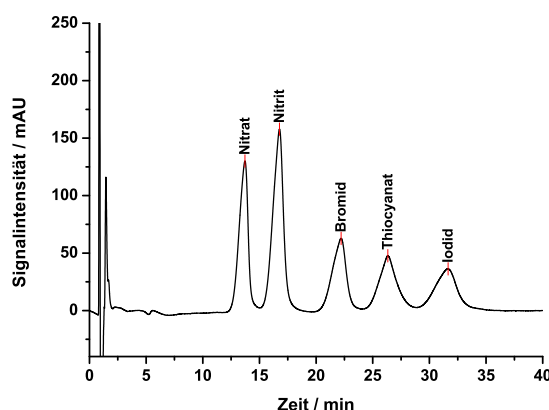


Abbildung 6.82: Trennung anorganischer Anionen unter Einsatz der Trennsäule **SB2-3-1**. Eluent: 6 mmol/l NaOAc, pH 4,75, 70% Acetonitril, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,4 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm × 100 mm.

Hierbei wird ein **SB2**-Material eingesetzt, also eine funktionelle Gruppe, die im Rahmen der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher nicht besonders gut für die ZIC-HILIC-Trennung anorganischer Anionen geeignet war. Zudem wird ein niedrig konzentrierter Natriumacetat-Eluent bei einem Acetonitrilanteil von nur 70% (gegenüber 80% in den vorangegangenen Abbildungen) eingesetzt. Dennoch liefert die 2 mm-Trennsäule bei vergleichbaren Flussraten – bezogen auf die Säulendimension – sehr hohe Retentionszeiten mit ausgezeichneten Trennungen der fünf Analytanionen.

Zwar sind die Peakformen – bedingt durch die nicht optimierten 2 mm-Trennsäulen – nicht ideal, die Retentionszeit von Iodid liegt jedoch mit 31,9 min um eine Größenordnung höher als bei Verwendung der kommerziellen Austauscher unter vergleichbaren Bedingungen. Des Weiteren lässt dieses Chromatogramm nochmals eindrucksvoll die ungewöhnlichen Selektivitäten erkennen, die durch ZIC-HILIC-Trennungen möglich sind. So eluiert z. B. Thiocyanat vor Iodid. Durch geeignete Wahl des Eluenten kann Thiocyanat sogar noch vor Bromid gebracht werden.

Die Untersuchung der homologen Reihe liefert also wieder einen guten Einblick in die Me-

chanismen der Trennungen. Unter ZIC-HILIC-Bedingungen werden die entropischen Vorteile der chaotropen Analytionen reduziert, es kommt zu Selektivitätsveränderungen. Die Trennung erfolgt hauptsächlich nach der Hydrophilie bzw. der Hydratationsenthalpie der Anionen, elektrostatische Wechselwirkungen spielen eine – wenn auch untergeordnete – Rolle. Zudem werden Effekte der *Donnan*-Membranen zurückgedrängt und die Trennungen hängen eher von der Elutionenstärke ab. Die Untersuchung an der höherkapazitiven 2 mm-Trennsäule zeigt, welches Potential in den hergestellten zwitterionischen Austauschern steckt. Um dieses Potential ausschöpfen zu können, müssen in weiterführenden Arbeiten jedoch noch die Abhängigkeiten der Trennungen von den Austauscherkapazitäten ausführlich untersucht werden.

### 6.8.3 Trennung aliphatischer Carbonsäuren

Nachdem die Trennungen anorganischer Anionen erste Einblicke in die Mechanismen der ZIC-HILIC geliefert haben, sollen im weiteren Verlauf der Arbeit typische ZIC-HILIC-Analyten untersucht werden. Zum Einsatz kommen zunächst Carbonsäuren. Carbonsäuren stellen – je nach pH-Wert – geladene oder ungeladene Analyten dar, die in jedem Fall aber sehr polar sind. Ihre Trennung ist unter RP-HPLC-Bedingungen nicht möglich. Lediglich die deutlich weniger polaren aromatischen Carbonsäuren können bei niedrigen pH-Werten, in ihrer ungeladenen Form, aufgrund des unpolaren Benzolrings unter RP-Bedingungen retardiert werden. Eine Retention von aliphatischen Carbonsäuren ist auch bei niedrigen pH-Werten auf RP-Trennsäulen nicht möglich, sie eluieren im Totvolumen.

Diese Analyten gehören somit zu der für ZIC-HILIC-Trennungen prädestinierten Gruppe polarer organischer Verbindungen. Um wiederum Aussagen über die während der Trennungen ablaufenden Prozesse machen zu können, sind in Tabelle 6.15 einige physikalisch-chemische Daten der untersuchten aliphatischen Carbonsäuren zusammengefasst.

Tabelle 6.15: Physikalisch-chemische Daten der vier untersuchten aliphatischen Carbonsäuren<sup>[151][148][152]</sup>.

Carbonsäure	Wasserlöslichkeit / g/l	pK <sub>s</sub> COOH	log p <sub>ow</sub>
2-Ketoglutarinsäure	100	2,37/3,89	-1,01
Fumarsäure	4,9	3,0/4,5	0,46
Oxalsäure	100	1,23/4,19	-0,81
Malonsäure	1390	2,83/5,69	-0,81

Im Vergleich mit den zuvor unter rein wässrigen Bedingungen untersuchten aromatischen Carbonsäuren, zeigen die aliphatischen Carbonsäuren deutlich andere Eigenschaften (vgl. Tabelle 6.13). Die Wasserlöslichkeiten liegen – mit Ausnahme der Fumarsäure – um mindestens eine

Größenordnung höher, die aliphatischen Säuren sind also deutlich hydrophiler als ihre aromatischen Analoga. Dies äußert sich ebenfalls in den  $\log p_{OW}$ -Werten. Für die aliphatischen Carbonsäuren – ebenfalls mit Ausnahme der Fumarsäure – zeigen diese negative Werte. So ist also z. B. die 2-Ketoglutaratsäure 100 Mal besser in Wasser löslich, als in Oktanol. Zum besseren Verständnis der in Tabelle 6.15 dargestellten Werte und deren Unterschiede – besonders in Bezug auf die Fumarsäure – sind die Strukturen der Carbonsäuren in Abbildung 6.83 dargestellt.

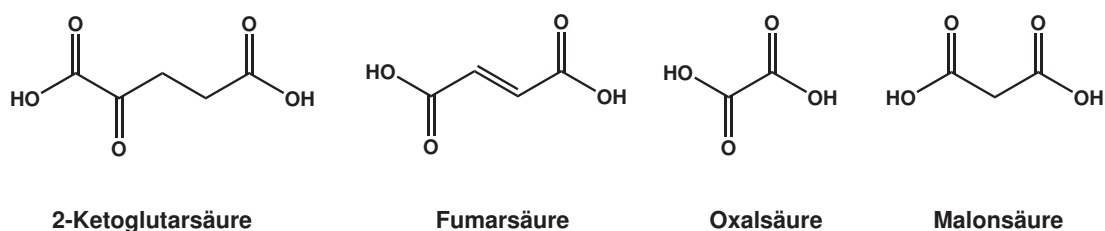


Abbildung 6.83: Strukturen der untersuchten aliphatischen Carbonsäuren.

Bei allen untersuchten aliphatischen Carbonsäuren handelt es sich um Dicarbonsäuren. Monocarbonsäuren lassen sich mit der ZIC-HILIC zwar prinzipiell ebenfalls trennen, weisen jedoch mit steigender Kettenlänge rapide fallende Hydrophilien und damit fallende Retentionszeiten im Rahmen von ZIC-HILIC-Trennungen auf. Um die beobachtbaren Effekte besser darstellen zu können, werden daher Carbonsäuren eingesetzt, die erwartungsgemäß hohe Retentionszeiten aufweisen sollten. Zudem muss – aufgrund der Verwendung der UV-Detektion – auf eine möglichst hohe UV-Absorption der untersuchten Carbonsäuren geachtet werden. Diese ist bei den gezeigten Strukturen gegeben.

Bei Betrachtung der Strukturen in Abbildung 6.83 wird klar, warum die Fumarsäure hydrophober ist, als die übrigen aufgeführten Carbonsäuren. Fumarsäure trägt im Spacer zwischen den Carboxylgruppen eine Doppelbindung. Das System ist dadurch zwar nicht aromatisch, die Hydrophilie wird jedoch gesenkt.

### 6.8.3.1 Modifizierabhängigkeit der Carbonsäuretrennungen

Unter Verwendung von Natriumperchlorat- und Natriumacetat-Eluenten können die Retentionszeiten dieser vier Carbonsäuren nun in Abhängigkeit der Eluent-Zusammensetzung untersucht werden, um Aufschlüsse über die ablaufenden ZIC-HILIC-Trennungen zu erlangen. Zunächst werden die Analyten mit einem Perchlorat-Eluenten gleichbleibender Gesamtionenstärke von 40 mmol/l im Übergang vom ZIC- in den ZIC-HILIC-Bereich untersucht. Beispielhaft sind in Abbildung 6.84 die Retentionsfaktoren gegen die Acetonitrilanteile für die Trennsäulen **SB5** sowie ZIC-HILIC aufgetragen.

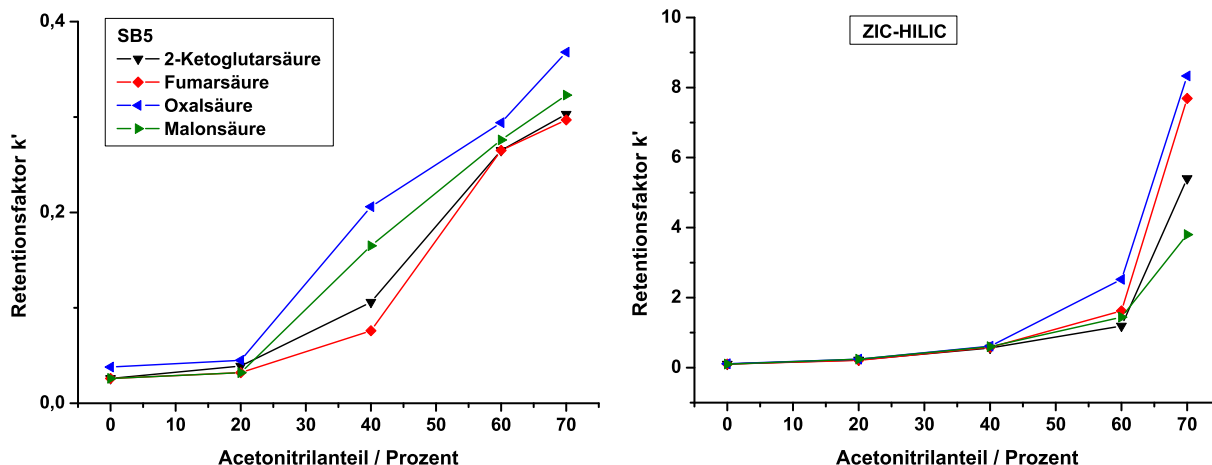


Abbildung 6.84: Abhängigkeiten der Trennung aliphatischer Carbonsäuren vom Modifiziergehalt. Eluent: 40 mmol/l  $\text{NaClO}_4$ , UV-Detektion bei 210 nm, Trennsäule: **SB5** (links), ZIC-HILIC (rechts), Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für den kommerziellen Austauscher).

Gezeigt sind nur die Graphen dieser beiden Austauscher, da sie das Verhalten der unterschiedlichen Materialien im betrachteten Modifizierbereich bereits vollumfänglich beschreiben.

Bei allen Austauschern – einschließlich der PS/DVB-basierten Phasen – kommt es unter rein wässrigen Bedingungen nicht zur Retention der aliphatischen Carbonsäuren. Dies steht im Gegensatz zu den Beobachtungen, die mit den aromatischen Carbonsäuren gemacht wurden. Die erhöhte Hydrophilie der aliphatischen Dicarbonsäuren verhindert folglich effektiv das Auftreten sekundärer Wechselwirkungen.

Bei Steigerung des Modifiziergehaltes kommt es auf den beiden kommerziellen Trennsäulen (ZIC-pHILIC verhält sich analog zu ZIC-HILIC) ab einem Acetonitrilanteil von etwa 50% bis 60% zu einem Anstieg der Retentionsfaktoren. In diesem Bereich setzen die ZIC-HILIC-Mechanismen ein. Die Polaritäten der mobilen und stationären Phase erreichen in diesem Bereich hoher Modifiziergehalte die gewünschten Verhältnisse, die denen der NP-HPLC entsprechen.

Im Gegensatz zu den kommerziellen Materialien weist die hergestellte homologe Reihe zwitterionischer Austauscher auch bei Modifiziergehalten von 70% nur moderate Retentionszeitsteigerungen auf. So ist im linken Graph der Abbildung 6.84 zwar ein merklicher Anstieg der Retentionsfaktoren zu erkennen, die Absolutwerte liegen mit maximal 0,38 für Oxalsäure jedoch deutlich unter denen der kommerziellen Austauscher. Für die ZIC-HILIC-Trennsäule wird bei 70% Acetonitrilanteil für Oxalsäure bereits ein Retentionsfaktor von 8,6 erreicht.

Die Untersuchung der Retentionszeiten im Bereich niedriger Modifiziergehalte ist somit im weiteren Verlauf der Arbeit nicht sinnvoll. Es wird also bezüglich der Carbonsäuretrennungen nur

noch der Bereich von 60% bis 80% Modifiziergehalt betrachtet.

### 6.8.3.2 Einsetzbarkeit eines Natriumperchlorat-Eluenten

Die nächste zu klärende Frage richtet sich auf die Einsetzbarkeit des Natriumperchlorat-Eluenten. Dieser Eluent wurde zunächst aufgrund seiner niedrigen UV-Absorption verwendet, welche die Detektion eines breiten Spektrums an aliphatischen Carbonsäuren gewährleisten sollte. Dies ist bezüglich der Detektion auch erfolgreich, so dass neben den genannten vier Carbonsäuren übergangsweise auch noch die Carbonsäuren Bernsteinsäure, Glutarsäure, Äpfelsäure, Citronensäure und Isocitronensäure untersucht werden konnten.

Die Frage nach der Einsatzfähigkeit des Perchlorat-Eluenten beschränkt sich jedoch nicht nur auf die Detektion. Ebenso entscheidend ist eine ausreichende Toleranz der stationären Phasen, die mit guten Peakformen und hohen Bodenzahlen einhergeht. Nach dem Übergang von wässrigen zu ZIC-HILIC-Bedingungen sind diese beiden Kriterien jedoch nicht mehr gegeben.

Die Chromatogramme von Fumarsäurestandards unter Verwendung der beiden kommerziellen Trennsäulen ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC mit einem Natriumperchlorat-Eluenten bei 70% Acetonitrilanteil sind in Abbildung 6.85 dargestellt.

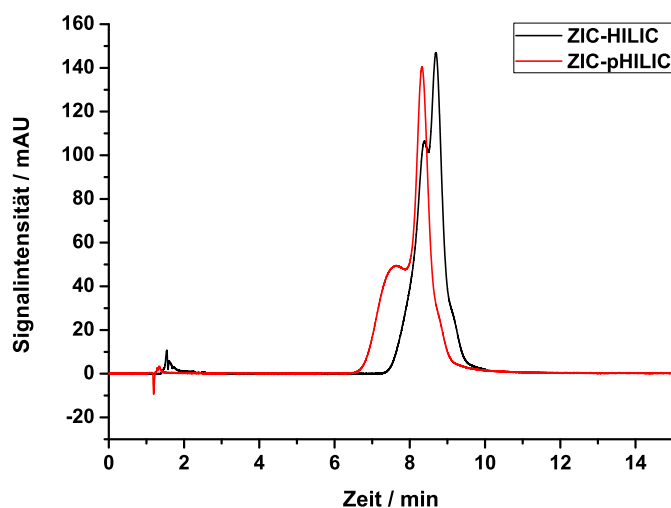


Abbildung 6.85: Schlechte Peakformen der kommerziellen Trennsäulen bei Retention von Fumarsäure mit Natriumperchlorat-Eluenten. Eluent: 40 mmol/l  $\text{NaClO}_4$ , Modifizier: 70% Acetonitril, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 4,6 mm  $\times$  100 mm.

Für beide Austauschere sind Doppelpeaks bzw. unklare breite Signalformen mit mehreren Maxima zu erkennen. Auch die stationären Phasen der hergestellten homologen Reihe von Sulfobeta-



inaustauschern zeigt vergleichbare Peakformen. Der Übergang von rein wässrigen zu HILIC-Bedingungen unter Einsatz eines Natriumperchlorat-Eluenten hat die stationären Phasen folglich stark in Mitleidenschaft gezogen.

Ähnliche Signalformen können ihre Ursache auch in einer ungünstigen Polaritätsverteilung zwischen mobiler Phase und Lösungsmittel der Standardlösungen haben. So werden Doppelpeaks beobachtet, wenn rein wässrige Proben in Systeme hoher Modifiziergehalte injiziert werden. Dies wurde jedoch als Grund für die Signalformen ausgeschlossen, indem die Standardlösungen durch Verdünnen mit Eluent angesetzt wurden. Die schlechten Signalformen sind daher auf den Einsatz des Natriumperchlorat-Eluenten zurückzuführen.

Um die kommerziellen Trennsäulen wieder einsatzfähig zu machen, werden sie entsprechend der Herstellervorgaben mit Reinstwasser, Natriumchloridlösung, sowie HILIC-Eluent (Natriumacetat mit Acetonitril als Modifier) gespült. Nach dieser Prozedur werden sie unter Einsatz von Natriumacetat-Eluenten weiterverwendet. Die Probleme der Peakformen konnten dadurch behoben werden. Die hergestellte Reihe von PS/DVB-Austauschern wird erneut gepackt und anschließend mit akzeptablen Peakformen unter Einsatz desselben Natriumacetat-Eluenten verwendet.

### 6.8.3.3 Modifizierabhängigkeit bei Natriumacetat-Eluenten

Der Einsatz von Natriumacetat-Lösungen ist für die Trennung und Detektion aliphatischer Carbonsäuren jedoch nicht unproblematisch. So wurde zuvor diskutiert, dass der Natriumperchlorat-Eluent besonders aufgrund der geringen UV-Absorption für die Carbonsäuretrennung geeignet ist. Essigsäure – die bekanntlich selbst eine aliphatische Carbonsäure darstellt –, und somit der Natriumacetat-Eluent, weist hingegen eine recht hohe Eigenabsorption auf. Die detektierbaren Signalintensitäten sind daher geringer, weshalb nur die vier stark absorbierenden Carbonsäuren 2-Ketoglutarinsäure, Fumarsäure, Oxalsäure und Malonsäure weiter untersucht werden. Durch Kopplung z. B. mit der ESI-MS-Detektion sollten aber generell auch weitere Carbonsäuren mit guten Empfindlichkeiten nachzuweisen sein.

Für die Beurteilung des Retentionsverhaltens von Carbonsäuren ist die Auswahl der vier Analyten jedoch vollkommen ausreichend. Sie decken generell das Spektrum von stark (Fumarsäure) bis hin zu mäßig (Malonsäure) retardierten Carbonsäuren ab und ermöglichen damit eine umfangreiche Untersuchung der Trennmechanismen.

Nachdem in Abbildung 6.84 bereits die Modifizierabhängigkeit der Retentionsfaktoren unter Verwendung des Natriumperchlorat-Eluenten gezeigt wurden, sind in Abbildung 6.86 die Retentionsfaktoren in Abhängigkeit des Acetonitrilgehaltes unter Einsatz des Natriumacetat-Eluenten

dargestellt. Die Abbildung zeigt jedoch – wie bereits beschrieben – lediglich den interessanten ZIC-HILIC-Bereich ab einem Modifizieranteil von 60%.

In diesen Ausschnitten mit Modifiziergehalten bis 80% ist das Verhalten der unterschiedlichen Materialien gut zu erkennen. Rein qualitativ betrachtet, zeigen zunächst fast alle Austauscher das gleiche Bild. Die Retentionsfaktoren der Carbonsäuren steigen – besonders ab Modifiziergehalten von 70% bis 75% – stark an. Klar zu erkennen sind allerdings auch die z. T. drastischen Unterschiede in den Absolutwerten der Retentionsfaktoren. Während das **SB1**-Material selbst bei 80% Acetonitrilanteil noch Retentionsfaktoren unter eins liefert, werden bei den kommerziellen Trennsäulen für Oxalsäure Retentionsfaktoren von 33 (ZIC-HILIC) bzw. 82 (ZIC-pHILIC) erreicht. Von den hergestellten Austauschern liefert das **SB5**-Material mit einem Retentionsfaktor für Oxalsäure von beinahe 12 bei 80% Modifiziergehalt, die mit Abstand besten Ergebnisse. Die Unterschiede zwischen den kommerziellen Trennsäulen und den PS/DVB-Austauschern sind wiederum auf die geringeren Kapazitäten der hergestellten Materialien zurückzuführen.

Aufgrund der sehr niedrigen Retentionsfaktoren unterscheidet sich auch das Aussehen des Graphen für die **SB1**-Trennsäule von den anderen Austauschern. Beim Übergang von 60% auf 80% Modifiziergehalt kommt es für fast alle Analyten (Ausnahme: 2-Ketoglutarensäure) zu einer Umkehr der Elutionsreihenfolge. Betrachtet man lediglich die  $\log p_{OW}$ -Werte aus Tabelle 6.15, würde sich unter HILIC-Bedingungen eine Elutionsreihenfolge nach Hydrophilie – d. h. mit hohen Retentionszeiten für die sehr gut wasserlöslichen Analyten – von Fumarsäure, Oxal-/Malonsäure und 2-Ketoglutarensäure (mit steigenden Retentionszeiten) ergeben. Dies trifft nicht zu, wobei auch bedacht werden muss, dass die Hydrophilien der Carbonsäuren aufgrund der unterschiedlichen  $pK_S$ -Werte stark vom pH-Wert abhängen. Auf diese Thematik wird unter Punkt 6.8.3.4 noch detailliert eingegangen.

Die pH-Abhängigkeit außer Acht lassend, ist eine Umkehr der Elutionsreihenfolge im Übergang von ZIC- zu ZIC-HILIC-Bedingungen nicht verwunderlich, da sich auch die Polaritätsverhältnisse zwischen mobiler und stationärer Phase ändern. Analog zu den anorganischen Anionen werden auch die aliphatischen Carbonsäuren deutliche Einflüsse der hydrophilen Verteilung zeigen. Beim **SB1**-Austauscher ist dies gerade aufgrund der niedrigen Retentionsfaktoren zu erkennen. Die übrigen Austauscher zeigen unter rein wässrigen Bedingungen mit vernachlässigbaren Retentionszeiten ebenfalls größtenteils umgekehrte Elutionsreihenfolgen. Dieser Unterschied ist in Abbildung 6.86 jedoch aufgrund der großen Differenzen in den Retentionsfaktoren zwischen 60% und 80% Modifiziergehalt kaum oder gar nicht zu erkennen. Betrachtet man die Fumarsäurekurven für die Austauscher **SB3** und **SB4** kann ein analoges Verhalten jedoch zumindest erahnt werden.

Ähnlich wie bei der Anionentrennung unter ZIC-HILIC-Bedingungen, sind für die Änderungen der Retentionsfaktoren bei Variation des Modifiziergehalts keine grundlegend verschiedenen Gra-

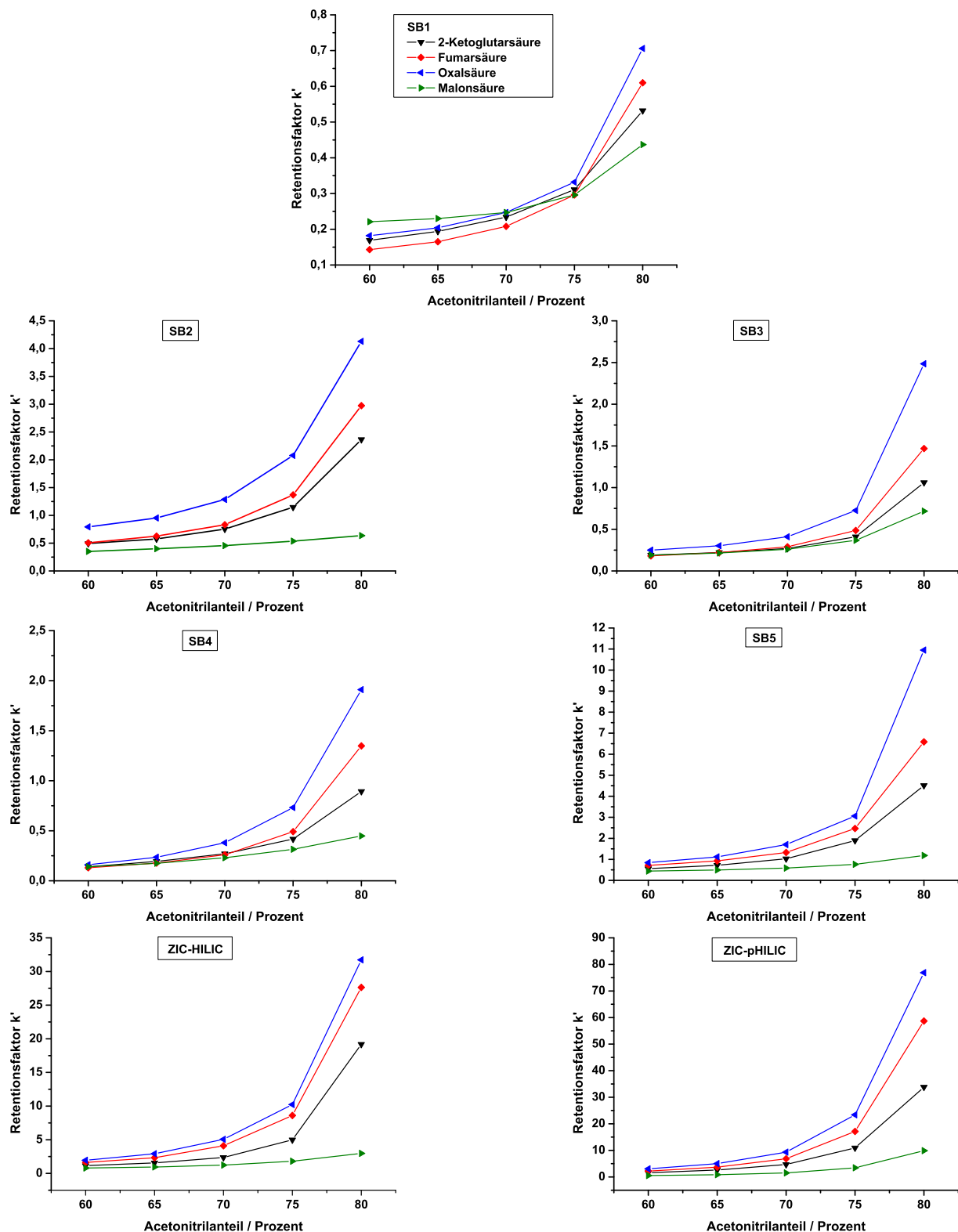


Abbildung 6.86: Abhängigkeiten der Trennung aliphatischer Carbonsäuren vom Acetonitrilanteil. Eluent: 40 mmol/l Natriumacetat, pH 4,75, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

phen für die unterschiedlichen Austauscher zu erkennen. Es wird lediglich deutlich, dass die Länge des Spacers zwischen den geladenen Gruppen einen Einfluss auf die Trennleistungen hat, wobei das **SB5**-Material das Beste der hergestellten homologen Reihe darstellt.

Um weitere Einblicke in das Trennverhalten der Austauscher zu erlangen und Unterschiede zwischen den Materialien verschiedener Kettenlängen auszumachen, werden im weiteren Verlauf der Arbeit der Eluent-pH-Wert und die Elutionenstärke variiert.

#### 6.8.3.4 Variation des Eluent-pH-Werts

Für die Veränderung des Eluent-pH-Werts werden – wie bereits angedeutet – deutliche Unterschiede in Bezug auf die vier Analyten erwartet. Aufgrund der verschiedenen  $pK_S$ -Werte liegen die Carbonsäuren bei gleichem pH-Wert in unterschiedlichem Maße dissoziiert vor. Die Hydrophilien sind also stark verschieden. Bei hohen pH-Werten, oberhalb der höchsten  $pK_S$ -Werte der Säuren, sollte sich eine Elutionsreihenfolge ergeben, die direkt mit der Hydrophilie der Moleküle korreliert. Bei niedrigeren pH-Werten werden Selektivitätsänderungen mit Variationen der pH-Werte erwartet. Die Auftragungen der Retentionsfaktoren gegen die Eluent-pH-Werte sind in Abbildung 6.87 gezeigt. Die Messungen werden bei einer Elutionenstärke von 40 mmol/l durchgeführt, der Modifiziergehalt wird für die PS/DVB-Materialien auf 80%, für die kommerziellen Austauscher auf 70% konstant gehalten. Der Unterschied kann durch die stark unterschiedlichen Trennleistungen der hergestellten Materialien gegenüber den kommerziellen Trennsäulen begründet werden. Aus Abbildung 6.86 geht hervor, dass die ZIC-HILIC- und ZIC-pHILIC-Trennsäulen bei um 10% reduzierten Modifizieranteilen zu den PS/DVB-Austauschern vergleichbare Retentionsfaktoren zeigen. Bei 80% Acetonitrilanteil wird die Detektion der Carbonsäuren auf den kommerziellen Materialien jedoch aufgrund der hohen Retentionszeiten fast unmöglich.

Auch diese Auftragung liefert gewisse Ähnlichkeiten zwischen einigen Austauschern, sie zeigt aber auch Unterschiede auf. So verhalten sich die Materialien **SB1**, **SB3**, **SB4** und **SB5** – abgesehen von den Absolutwerten der Retentionsfaktoren – etwa vergleichbar. Sie liefern alle steigende Retentionsfaktoren mit steigendem pH-Wert, die teilweise exponentiell, teilweise eher linear verlaufen. Ein Anstieg der Retentionszeiten mit steigendem pH-Wert war erwartet worden. Für diesen hätte sich aber bei Annäherung an pH-Werte von 6,00 ein Abflachen der Steigung einstellen müssen, so wie es für die kommerziellen Austauscher beobachtet wird.

Würde die Steigerung der Retentionsfaktoren lediglich von den Dissoziationsgraden der Carbonsäuren abhängen, sollten sich im Idealfall Retentionsfaktoränderungen ergeben, die letztlich vom Aussehen her Titrationskurven der Carbonsäuren entsprechen würden. Im pH-Bereich der  $pK_S$ -Werte müssten steile Anstiege erkennbar sein, während sich die Retentionsfaktoren weiter

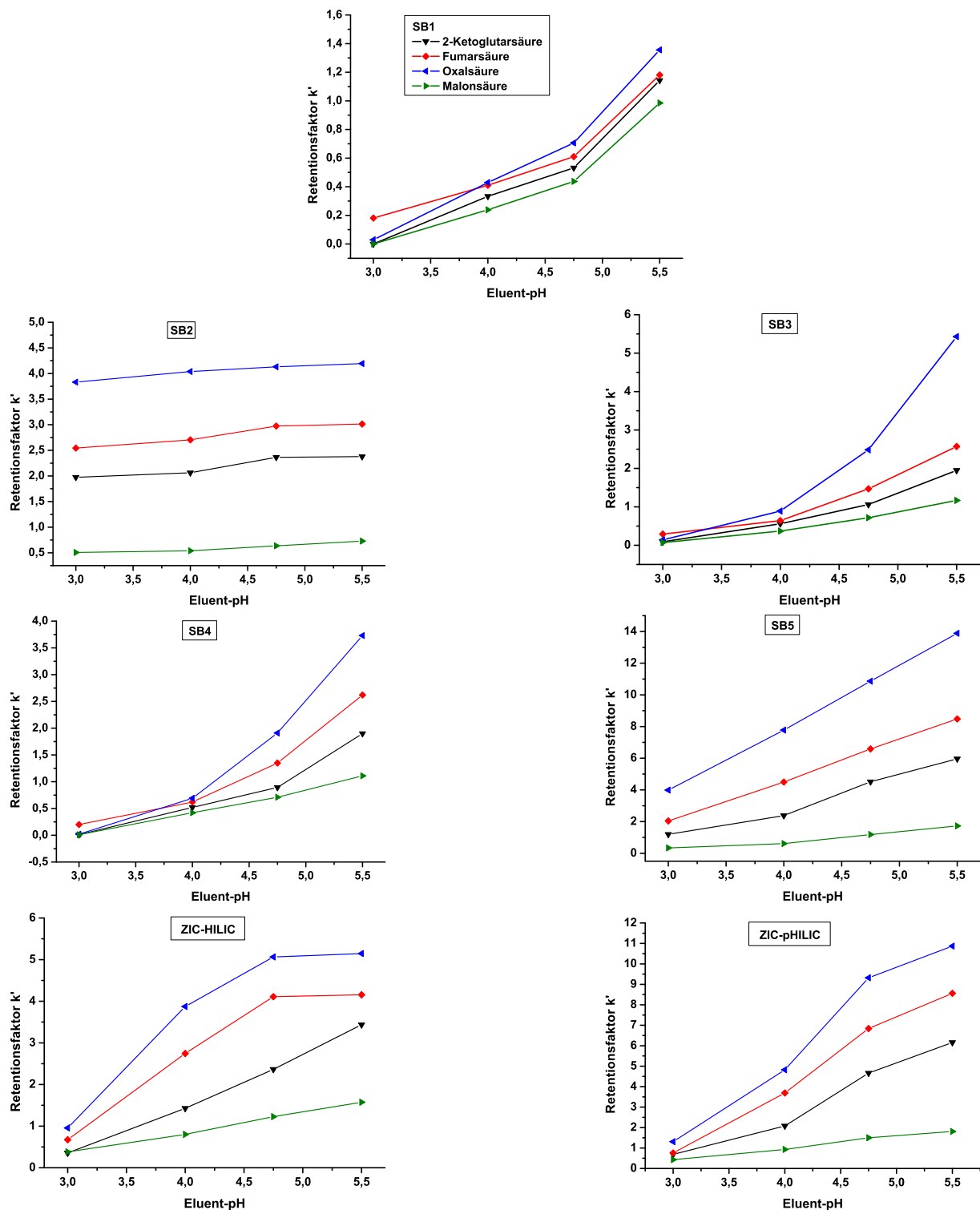


Abbildung 6.87: Abhängigkeiten der Trennung aliphatischer Carbonsäuren vom Eluent-pH-Wert. Eluent: 40 mmol/l Natriumacetat, Modifiziergehalt: 80% für PS/DVB-Austauscher, 70% für kommerzielle Materialien, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

entfernt von den  $pK_s$ -Werten kaum ändern dürften. Zudem würde sich bei einer reinen Dissoziationsabhängigkeit die zuvor angesprochene Elutionsreihenfolge ergeben.

Offensichtlich hängt die Retention der Carbonsäuren aber nicht nur von einem Verteilungsmechanismus im Sinne einer NP-Polarität ab. Die gezeigten Kurvenverläufe müssen somit ein Resultat mehrerer Trennmechanismen sein. Alle Austauschere liefern dieselbe Elutionsreihenfolge mit Malonsäure vor 2-Ketoglutarinsäure, Fumarsäure und Oxalsäure. Oxalsäure zeigt allerdings bei einigen Materialien (**SB1**, **SB3** und **SB4**) mit steigendem pH-Wert eine Selektivitätsveränderung. Neben dem Dissoziationsgrad könnten u. a. die Geometrien der Carbonsäuren sowie das Vorhandensein unpolarer Spacer einen Einfluss auf die Retention haben.

Die am stärksten retardierte aliphatische Carbonsäure – Oxalsäure – stellt ein kurzes Molekül mit frei drehbaren Carboxylgruppen dar, die jedoch aufgrund des geringen Abstandes immer im größtmöglichen Winkel zueinander stehen (siehe Abbildung 6.83). Stellt man sich die Ladungen als vollständig über die Carboxylgruppen delokalisiert vor, sind die Zugänglichkeiten beider Gruppen ideal. Zudem besitzt Oxalsäure keine Methylengruppe, die für hydrophobe Wechselwirkungen in Frage käme. Sie ist damit auch das kleinste, höchstgeladene Molekül aus der Reihe. Unter diesen Blickwinkeln erscheint es gar nicht ungewöhnlich, dass Oxalsäure am stärksten retardiert wird. Die hohe Retention kann ein Indiz dafür sein, dass auch elektrostatische Wechselwirkungen eine Rolle spielen. So werden im Rahmen der Ionenaustauschchromatographie kleine, hochgeladene Analyten stärker retardiert, als große, gleichgeladene Analyten. Die  $\log p_{ow}$ -Werte sind diesbezüglich evtl. sogar irreführend, da die Verteilungskoeffizienten stark pH-abhängig sind, was bei der Bestimmung der tabellierten Werte teilweise unberücksichtigt bleibt.

Eine noch bessere Erklärung des Einflusses der Geometrie bzw. des nach außen wirkenden Größe/Ladungs-Verhältnisses liefert das Paar Malonsäure/Fumarsäure. Obwohl Fumarsäure aufgrund der Doppelbindung eigentlich unpolarer ist, liefert sie höhere Retentionszeiten als Malonsäure. Von der Geometrie der Fumarsäure her, erscheint sie nach außen hin jedoch auch stärker geladen. Die beiden delokalisierten Ladungen der Carboxylgruppen werden durch die *cis*-Anordnung in einen idealen Winkel gezwungen. Die beiden Carboxylgruppen der Malonsäure können hingegen aufgrund der dazwischen liegenden Methylengruppe mit Tetraederanordnung keinen idealen Abstand einnehmen. Ein Teil ihrer Ladung geht somit – aus Ladungs/Volumen-Sicht – verloren. Zudem ist die relativ unabgeschirmte Methylengruppe für Wechselwirkungen mit der mobilen Phase prädestiniert. Dies generiert in Kombination eine geringere, als die nach Hydrophilie zu erwartende, Retentionszeit.

Die 2-Ketoglutarinsäure hingegen erfährt, trotz ihres relativ langen unpolaren Spacers (zwei Methylengruppen) eine höhere Retention als die Malonsäure. 2-Ketoglutarinsäure trägt jedoch eine

zusätzliche, polaritätserhöhende Carbonylgruppe und vollständig getrennte Carbonsäurefunktionen, welche die höhere Retention erklären.

Abschließend muss noch das abweichende Verhalten des **SB2**-Austauschers aus Abbildung 6.87 diskutiert werden. Dieses Material zeigt quasi keine Abhängigkeit der Retentionsfaktoren vom pH-Wert. Unbestritten ist jedoch, dass die pH-Wert-Änderung zu einem erhöhten Dissoziationsgrad und damit zu einer erhöhten Hydrophilie der Carbonsäuren führt. Die Carbonsäuretrennung unter Verwendung des **SB2**-Austauschers scheint demnach unabhängig von der Hydrophilie zu sein. Wahrscheinlicher ist allerdings, dass die Überlagerung verschiedener Effekte – wie z. B. der Hydrophilie der Carbonsäuren, der Ausbildung von *Donnan*-Membranen etc. – zufällig zu einer Kompensation führt.

Im Ergebnis stellt sich der ZIC-HILIC-Trennmechanismus der aliphatischen Carbonsäuren somit bislang als Mischung zwischen Verteilungsgleichgewichten aufgrund der Hydrophilie der Analyten und elektrostatischen Interaktionen dar. Die aus der ZIC bekannten Mechanismen werden also um den hydrophilen Anteil erweitert. Diese Vermutung wird zudem dadurch bestätigt, dass die Retentionsfaktoren in Abhängigkeit der Ladungsabstände der stationären Phasen vergleichbar mit denen aus den Anionentrennungen sind (vgl. Abbildung 6.61). Die vergleichbare Auftragung für die Carbonsäuretrennung ist in Abbildung 6.88 dargestellt.

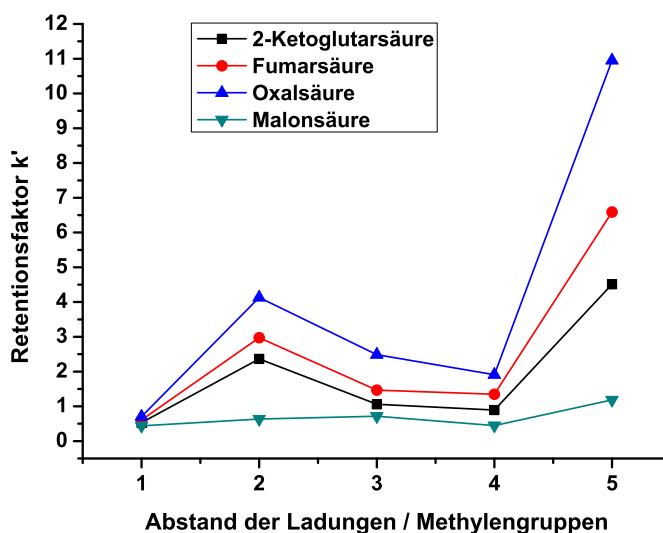


Abbildung 6.88: Abhängigkeit der Carbonsäuretrennung von den Abständen zwischen den geladenen funktionellen Gruppen. Eluent: 40 mmol/l Natriumacetat, pH 4,75, 80% Acetonitril, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm.

Aus dieser Auftragung ist ersichtlich, dass auch in Bezug auf die Carbonsäuretrennung die Austauscher **SB2** und **SB5** als am besten geeignet anzusehen sind. Die Materialien, die unter

ZIC-Bedingungen die besten Anionentrennleistungen aufgewiesen haben, sind also auch für die Trennung aliphatischer Carbonsäuren unter ZIC-HILIC-Bedingungen geeignet.

Um die Carbonsäuretrennungen umfassend zu untersuchen, muss jedoch noch der Einfluss der Elutionenstärke geklärt werden.

#### 6.8.3.5 Variation der Elutionenstärke

Aus der Trennung der anorganischen Anionen unter ZIC-HILIC-Bedingungen (siehe Punkt 6.8.2) konnte bereits gefolgert werden, dass die ZIC-Mechanismen unter diesen Bedingungen ebenfalls greifen. Aufgrund der räumlich geringen Ausdehnung der quasi-stationären Phase fallen die ZIC-Einflüsse jedoch nur gering aus.

Die aliphatischen Carbonsäuren zeigen für die Elutionenstärkeabhängigkeit jedoch deutlich andere Graphen. Diese sind in Abbildung 6.89 unter Verwendung eines Eluenten bei pH 4,75 mit 80% Acetonitril (PS/DVB-Austauscher) bzw. 70% Acetonitril (kommerzielle Trennsäulen) zusammengefasst.

Während die kommerziellen Austauscher kaum Abhängigkeiten zeigen und letztlich in Richtung konstanter Retentionsfaktoren bei höheren Elutionenstärken tendieren (insbesondere ZIC-pHILIC), zeigen die PS/DVB-Austauscher ausgeprägte Zunahmen der Retentionsfaktoren mit steigenden Elutionenkonzentrationen. Analog zu den Anionentrennungen scheint hier der größere Abstand der funktionellen Gruppen eher ein Einfalten mit Bildung innerer Ionenpaare zu bewirken. Ein weiterer Grund könnte darin liegen, dass die Erhöhung der Ionenstärke eine bessere Ausbildung der quasi-stationären Phase bewirkt (Flüssig/Flüssig-Extraktion).

Die ZIC-HILIC-Trennung aliphatischer Carbonsäuren beruht folglich auf einer Vielzahl sehr komplexer Mechanismen. Im Gegensatz zu den ZIC-Trennungen gelingt es selbst mit der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher nicht, bis ins letzte Detail in diese Mechanismen einzudringen. Die Komplexität der Trennungen verhindert eine Einzelbetrachtung der zusammenspielenden Trennmechanismen. Es kann jedoch zumindest gezeigt werden, dass die Hydrophilie der Analyten sowie aus der ZIC bekannte elektrostatische Einflüsse eine Rolle spielen. Zudem scheint aber auch noch die Güte der Phasentrennung zwischen mobiler und quasi-stationärer Phase einen Einfluss auf die chromatographischen Trennungen zu haben.

#### 6.8.3.6 Chromatographische Trennungen der Carbonsäuren

Grundsätzlich kann aber festgestellt werden, dass die hergestellten zwitterionischen Austauscher in der Lage sind, Carbonsäuren zu trennen. Im Gegensatz zu den kommerziellen Austauschern



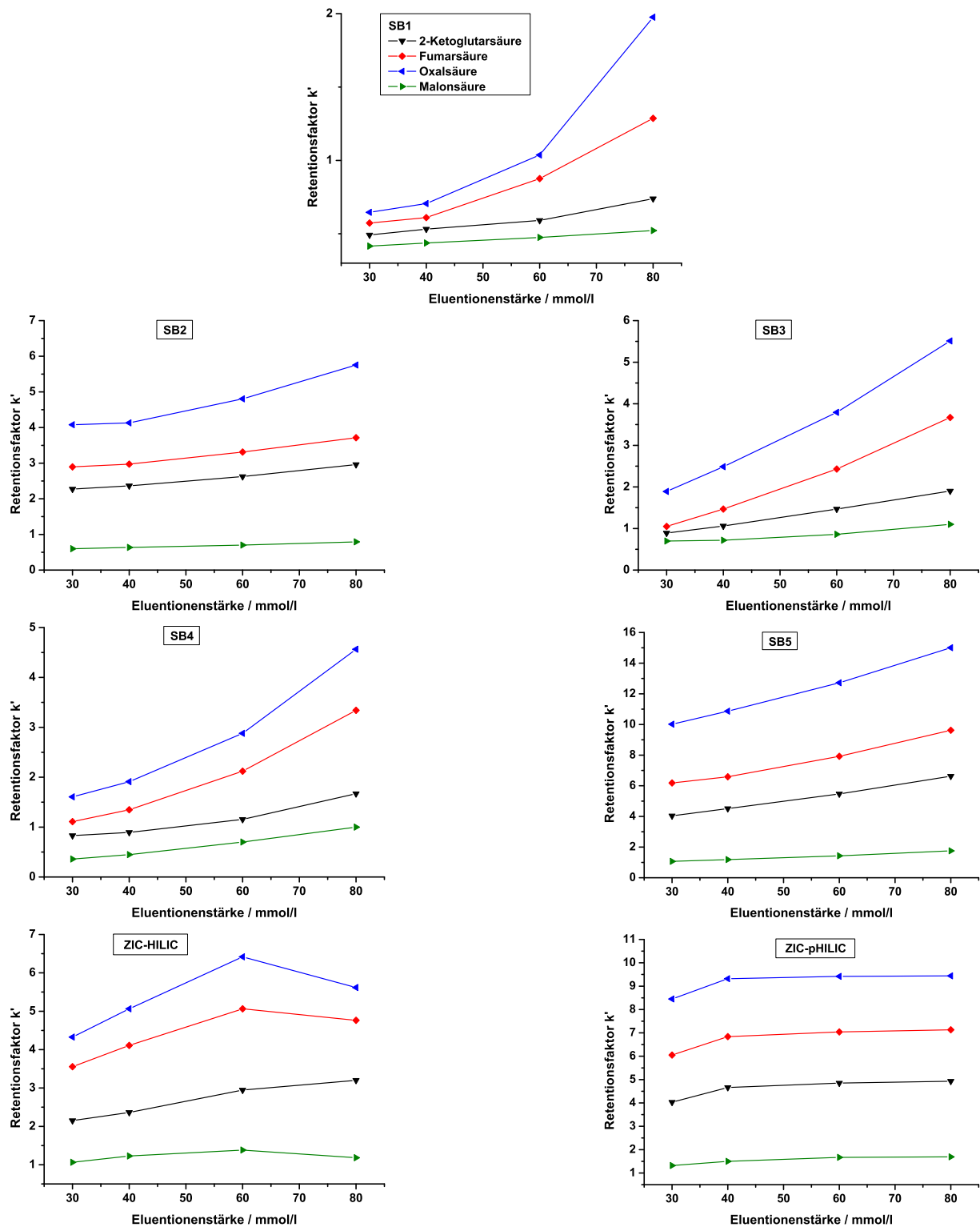


Abbildung 6.89: Abhängigkeit der Trennung aliphatischer Carbonsäuren von der Eluentenstärke. Eluent: 40 mmol/l NaOAc, pH 4,75, Modifiziergehalt: 80% für PS/DVB-Austauscher, 70% für kommerzielle Materialien, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

führen alle denkbaren Eluentvariationen – wie Steigerung der Elutionenstärke und Steigerung des Eluent-pH – zu einer Erhöhung der Retentionsfaktoren. Durch Kombination aller Einflussmöglichkeiten können die hergestellten Austauscher, insbesondere jedoch das **SB5**-Material, auf konkurrenzfähige Trennfähigkeiten gebracht werden.

Die Trennungen der vier untersuchten aliphatischen Carbonsäuren unter Einsatz eines nur teilweise optimierten Natriumacetat-Eluenten der Konzentration 60 mmol/l bei einem pH-Wert von 4,75 sind in Abbildung 6.90 gegenübergestellt.

Zunächst sind im Vergleich der homologen Reihe zwitterionischer Austauscher auf PS/DVB-Basis wieder deutliche Unterschiede zu erkennen. Diese fallen – besonders zwischen den Austauschern **SB2**, **SB3** und **SB4** – jedoch aufgrund der höheren Elutionenstärke nicht so stark auf, wie dies in Abbildung 6.88 beim Vergleich nach Ladungsabständen unter Einsatz eines 40 mmol/l Natriumacetat-Eluenten der Fall war. Der **SB1**-Austauscher liefert aber nach wie vor die schlechteste Trennung, während der **SB5**-Austauscher die höchsten Retentionsfaktoren ermöglicht.

Die Peakformen und Bodenhöhen der hergestellten PS/DVB-Austauscher sind, aufgrund der bereits genannten Probleme beim Übergang zu ZIC-HILIC-Bedingungen, zwar nicht ideal, eine Verbesserung sollte durch Optimierung der Packbedingungen jedoch gut zu erreichen sein. Im direkten Vergleich zwischen **SB5**-Austauscher und ZIC-pHILIC-Trennsäule zeigt das PS/DVB-Material bei 10% höherem Modifiziergehalt quasi identische Selektivitäten und Retentionsfaktoren wie der kommerzielle Austauscher.

Auch für diese Trennungen gilt, dass – analog zu den Anionentrennungen unter ZIC-HILIC-Bedingungen – Verbesserungen durch Kapazitätserhöhungen möglich sein sollten. Dies ist am Beispiel des bereits mehrfach gezeigten **SB2-3-1**-Austauschers dargestellt. Diese 2 mm-Trennsäule liefert unter Einsatz eines Natriumacetat-Eluenten der Konzentration 40 mmol/l (pH 4,75) bei einem Modifiziergehalt von 80% das in Abbildung 6.91 dargestellte Chromatogramm.

Das Signal der Oxalsäure ist aufgrund der sehr hohen Retentionszeit kaum mehr vom Untergrund zu unterscheiden und daher nicht abgebildet. Die Retentionsfaktoren dieses Austauschers liegen sogar noch deutlich über denen der kommerziellen Trennsäulen unter identischen Bedingungen, d. h. mit 80% Modifiziergehalt. Die Elutionsreihenfolge bleibt unverändert, Peakformen und Bodenzahlen sind sehr gut. Besonders aufgrund der Möglichkeit, sehr hohe Austauscherkapazitäten zu erreichen, ist das **SB2**-Material für zukünftige Untersuchungen interessant. Mit diesem Austauscher sind auch unter HILIC-Bedingungen Trennungen möglich, die denen der momentan kommerziell erhältlichen kovalent gebundenen zwitterionischen Austauscher deutlich überlegen sind.

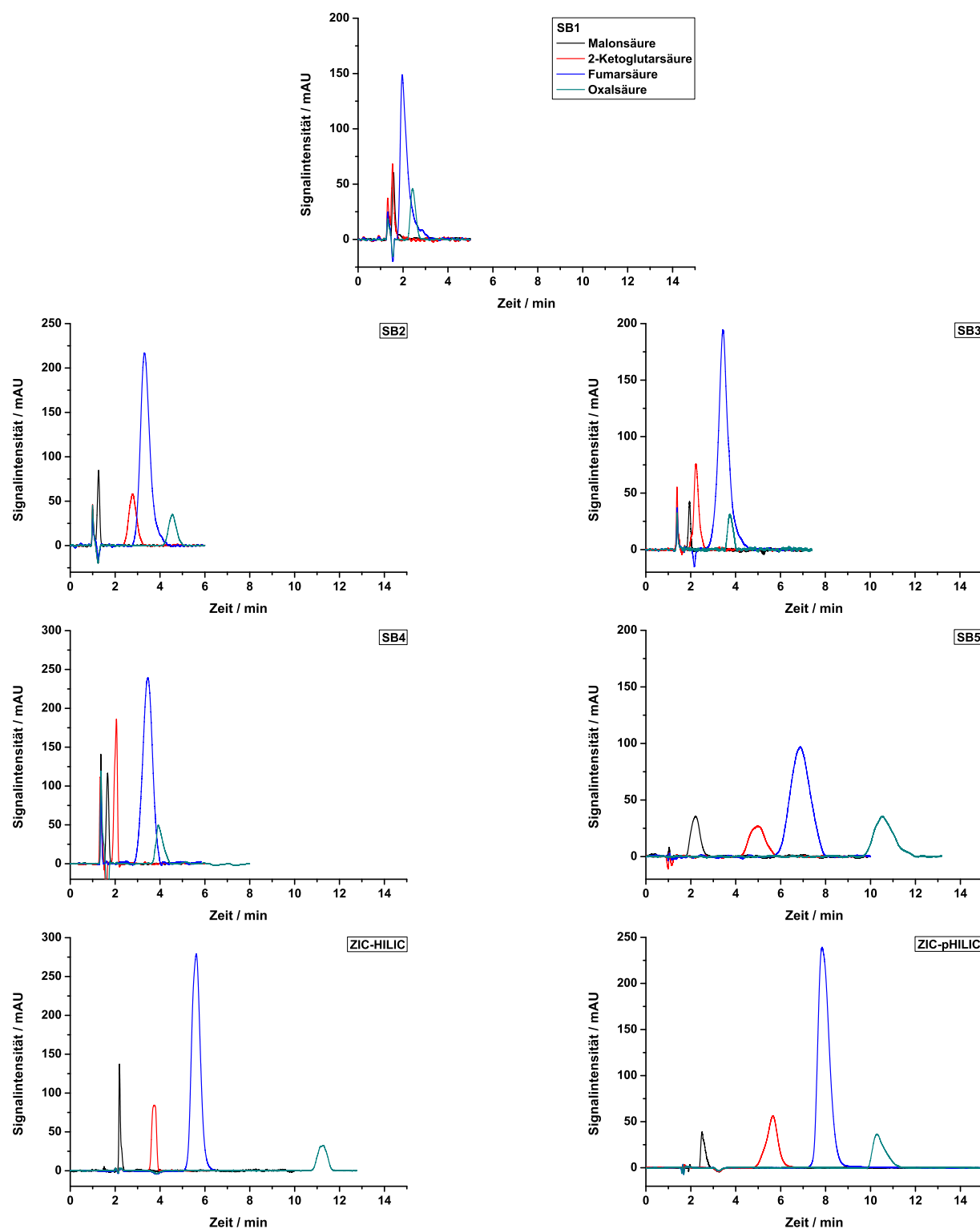


Abbildung 6.90: Chromatographische Trennungen der untersuchten aliphatischen Carbonsäuren. Eluent: 60 mmol/l NaOAc, pH 4,75, Modifiziergehalt: 80% für PS/DVB-Austauscher, 70% für kommerzielle Materialien, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).

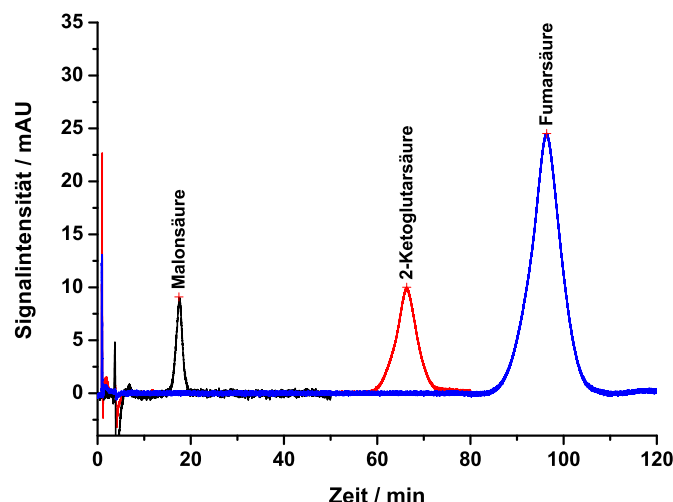


Abbildung 6.91: Überlagerung der chromatographischen Trennungen aliphatischer Carbonsäuren. Eluent: 40 mmol/l NaOAc, pH 4,75, Modifiziergehalt: 80% Acetonitril, Trennsäule: **SB2-3-1**, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,35 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu$ l, Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

#### 6.8.4 Trennung von Flavonoiden

Neben den Carbonsäuren als typische Vertreter der ZIC-HILIC-Analyten werden auch Flavonoide auf ihre Trennbarkeit mittels ZIC-HILIC-Bedingungen untersucht. Die Trennung von Flavonoid-Al(III)-Komplexen war bereits Gegenstand einer vorangegangenen Arbeit unter Verwendung der Kationenaustauschchromatographie<sup>[88]</sup>. Bereits diese Untersuchungen wurden unter Zusatz organischer Modifizier durchgeführt, da die untersuchten Flavonoide Quercetin und Rutin (glycolysiertes Derivat des Quercetin) unter wässrigen Bedingungen starke sekundäre Wechselwirkungen mit der stationären Phase eingegangen sind. Als Austauschermaterial wurden sulfonierte PS/DVB-Phasen eingesetzt.

Die starken sekundären Wechselwirkungen – insbesondere des Quercetins – beruhen auf der niedrigen Hydrophilie der Flavonoide. Die wichtigsten physikalisch-chemischen Daten von Rutin und Quercetin sind in Tabelle 6.16 zusammengefasst.

Tabelle 6.16: Physikalisch-chemische Daten der untersuchten Flavonoide<sup>[151][155][156]</sup>.

Flavonoid	Wasserlöslichkeit	pK <sub>s</sub>	log p <sub>ow</sub>
Quercetin	-	6,74	1,82
Rutin	1 g/8 ml	7,10	-0,64

Aufgrund des Glycosidrestes weist Rutin eine deutlich erhöhte Hydrophilie im Vergleich zu

Quercetin auf. Die  $\log p_{OW}$ -Werte bestätigen die in der vorangegangenen Arbeit beobachteten starken sekundären Wechselwirkungen des Quercetins aufgrund seiner geringen Hydrophilie. Rutin ging hier ebenfalls sekundäre Wechselwirkungen ein, die jedoch geringer ausfielen als die des Quercetins und in erster Linie auf die große Raumausfüllung des Moleküls zurückzuführen sind. Die untersuchten Flavonoide erfahren also – analog zu den bereits gezeigten aromatischen Carbonsäuren – bereits unter wässrigen Bedingungen deutliche Retention durch die unpolaren Trägermaterialien. Aufgrund ihrer grundsätzlich polaren Natur sollten Flavonoide jedoch auch über ZIC-HILIC-Mechanismen zu trennen sein. Die Strukturen von Quercetin und Rutin sind in Abbildung 6.92 gegeben.

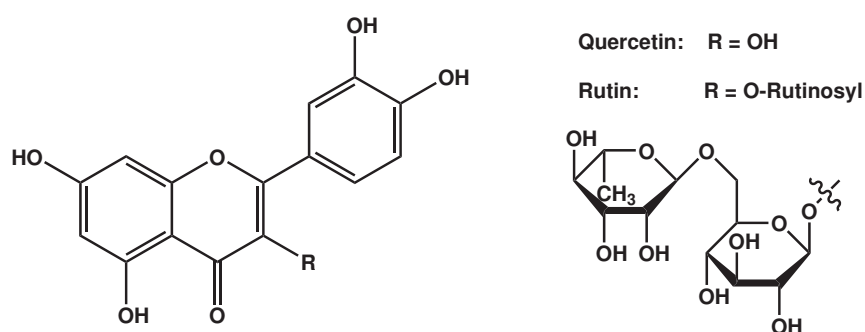


Abbildung 6.92: Strukturen der untersuchten Flavonoide.

Trennungen von Kohlenhydraten (Einfach- und Mehrfachzucker) sind auf den untersuchten Austauschern – auch auf den höherkapazitiven 2 mm-Trennsäulen – bislang nicht möglich. Die Trennung von Flavonoiden kann jedoch erreicht werden. Noch ausgeprägter als bei den aromatischen Carbonsäuren, die bereits unter ZIC-Bedingungen Retention zeigen, ist es ohne Zusatz organischer Modifizierer schwierig, die Flavonoide von den Trennsäulen zu eluieren. Während die aromatischen Carbonsäuren jedoch selbst unter ZIC-HILIC-Bedingungen kaum Retention zeigen, ist für die Flavonoide eine deutliche Steigerung der Retentionsfaktoren zu beobachten.

Die Änderung der Retentionsfaktoren mit dem Modifizieranteil ist für alle Austauscher in Abbildung 6.93 dargestellt. Betrachtet wird bei dieser Darstellung – analog zu den aliphatischen Carbonsäuren unter ZIC-HILIC-Bedingungen – lediglich der Bereich zwischen 60% und 80% Acetonitrilanteil. Bei Modifiziergehalten von unter 40% wird aufgrund starker sekundärer Wechselwirkungen keine Elution des nicht glycosylierten und damit unpolareren Flavonoids Quercetin beobachtet.

Unter ZIC-HILIC-Bedingungen zeigen alle Austauscher ein vollkommen vergleichbares Verhalten. Grundsätzlich wird für das glycosylierte Derivat Rutin eine Steigerung der Retentionsfaktoren mit steigenden Modifiziergehalten beobachtet, während das unpolarere Quercetin lediglich eine Stagnation der Retentionszeiten erfährt. Der stark polare Glycosidrest erhöht also die Polarität des Rutins derart, dass unter HILIC-Bedingungen – im Gegensatz zum weniger polaren

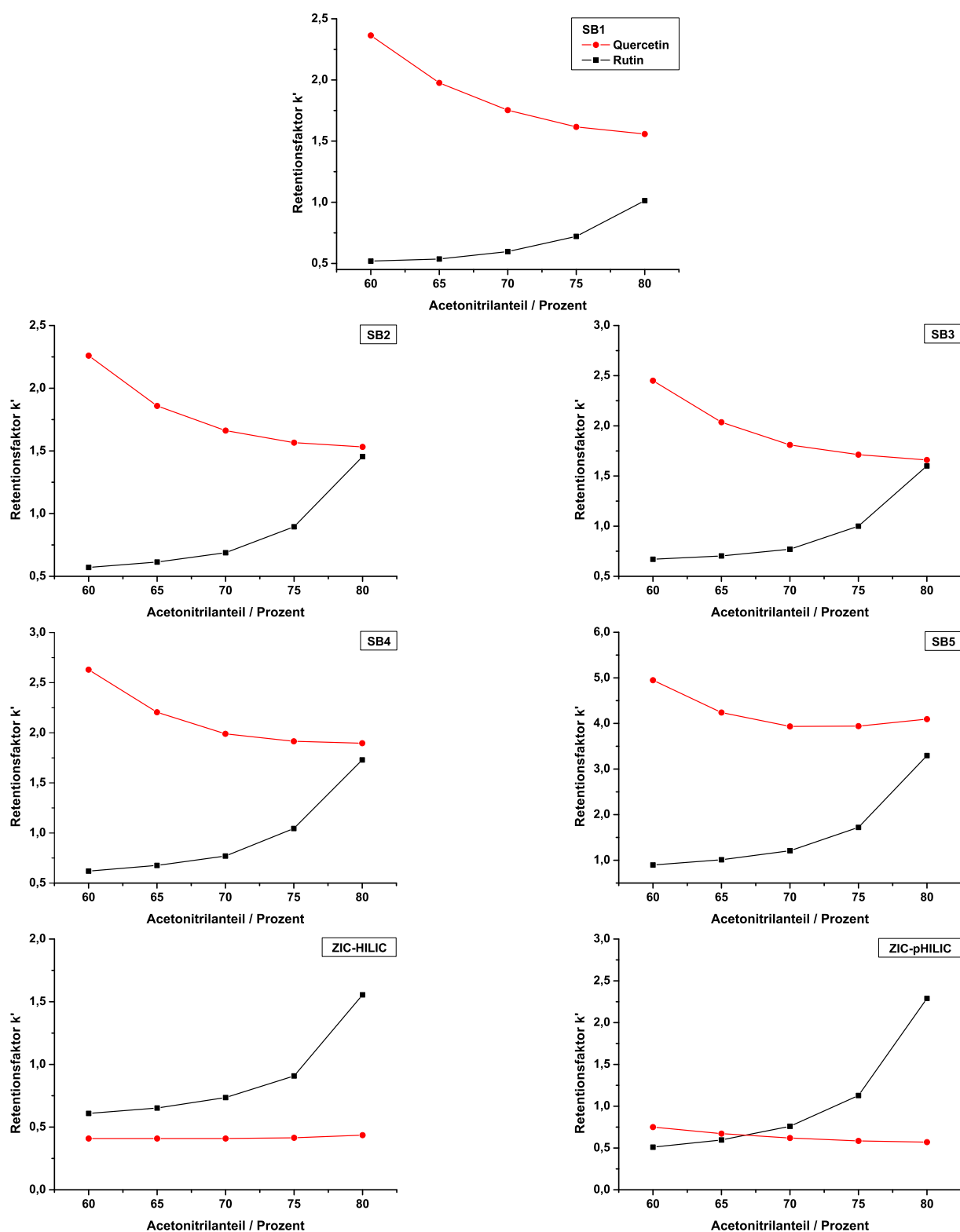


Abbildung 6.93: Retentionsfaktoren der untersuchten Flavonoide unter Variation des Modifiergehalts. Eluent: 40 mmol/l NaOAc, pH 4,75, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Proben-schleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austausch-er).

Analogon (Quercetin) – eine ZIC-HILIC-Retention beobachtet werden kann.

Bei Betrachtung der Auftragungen aus Abbildung 6.93 fällt neben der Ähnlichkeit aller Graphen auf, dass die Auftragungen für die kommerziellen Trennsäulen eine Selektivitätsumkehr zwischen Rutin und Quercetin aufweisen. Für das polare, über ZIC-HILIC-Bedingungen retardierte Rutin, liefern die kommerziellen Materialien vergleichbare Retentionsfaktoren wie die PS/DVB-Austauscher. Das unpolare Quercetin wird jedoch auf den kommerziellen Trennsäulen deutlich weniger retardiert. Dies bestätigt die höhere Polarität der kommerziellen Trägermaterialien, welche sich in reduzierten sekundären Wechselwirkungen niederschlägt.

Diese Trennungen zeigen jedoch auch einen Vorteil, der durch die geringere Polarität des verwendeten PS/DVB-Grundmaterials erreicht werden kann. So erfahren tendenziell unpolare Verbindungen – wie in diesem Fall das Quercetin – auch unter ZIC-HILIC-Bedingungen nennenswerte Retention aufgrund sekundärer Wechselwirkungen. Eine Trennung der beiden Flavonoide Rutin und Quercetin ist somit bei geeigneter Wahl der mobilen Phasen unter ZIC-HILIC-Bedingungen deutlich entfernt vom Totvolumen möglich. Die chromatographischen Trennungen der beiden Flavonoide sind in Abbildung 6.94 für alle untersuchten Austauscher zusammengefasst.

Während die Austauscher **SB2**, **SB3** und **SB4** unter den gewählten Bedingungen zufällig eine Coelution der beiden Flavonoide zeigen, ist mit dem **SB5**-Austauscher eine gute Basislinientrennung für die untersuchten Analyten zu erreichen. Die Peakformen und Trenneffizienzen sind bei allen hergestellten Materialien akzeptabel. Im Gegensatz zu den PS/DVB-Austauschern eluiert Quercetin unter Verwendung der kommerziellen Trennsäulen im Totvolumen (ZIC-HILIC) bzw. nahe am Totvolumen (ZIC-pHILIC) und kann daher nicht sicher bestimmt und auch nicht quantifiziert werden. Rutin liefert auf diesen beiden stationären Phasen jedoch Retentionszeiten, die mit dem **SB5**-Austauscher vergleichbar sind. Das ausgeprägte Tailing der ZIC-pHILIC-Trennsäule wird bei den anderen Materialien nicht beobachtet.

In Bezug auf Rutin liefert der homologe Satz an Sulfobetain austauschern Retentionszeiten, die mit denen kommerzieller Austauscher vergleichbar sind. Wie aus Abbildung 6.93 bei niedrigeren Modifiziergehalten ersichtlich wird, erfährt Rutin auf den PS/DVB-Austauschern auch keine stärkeren sekundären Wechselwirkungen, als auf der ZIC-HILIC- und ZIC-pHILIC-Trennsäule. Die Retentionsfaktoren bei 60% Acetonitril sind beinahe identisch. Es handelt sich bei der Retention von Rutin somit zweifelsfrei um eine ZIC-HILIC-Retention, was insbesondere an den steigenden Retentionsfaktoren mit steigenden Modifiziergehalten festgemacht werden kann. Im Gegensatz zur Trennung der aliphatischen Carbonsäuren unter HILIC-Bedingungen liefern die PS/DVB-Austauscher für Rutin konkurrenzfähige Retentionszeiten. Aufgrund der sekundären Wechselwirkungen ist insbesondere unter Verwendung des **SB5**-Austauschers sogar eine Basislinientrennung der Flavonoide Rutin und Quercetin möglich.

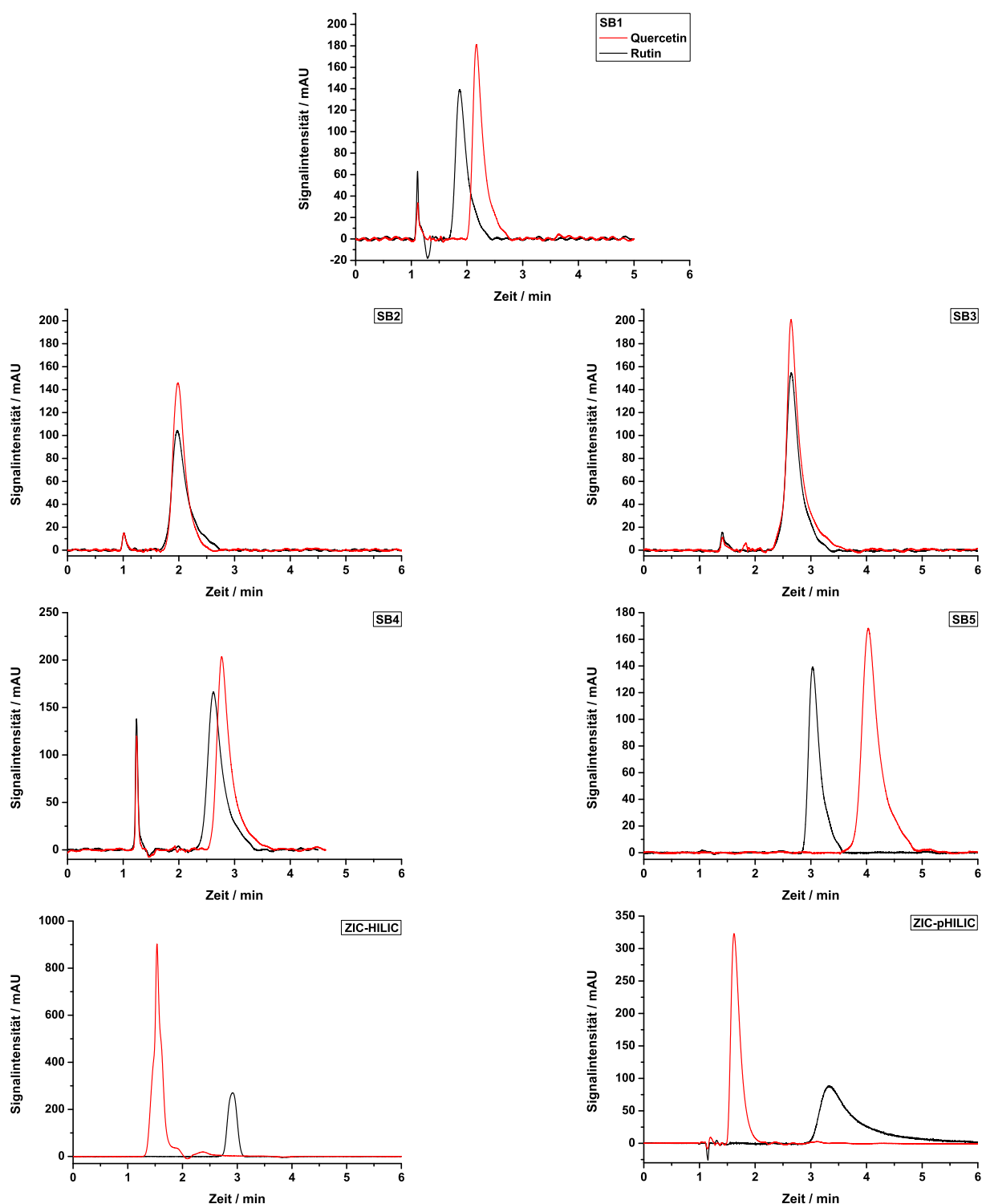


Abbildung 6.94: Trennungen der beiden Flavonoide Quercetin und Rutin unter ZIC-HILIC-Bedingungen. Eluent: 40 mmol/l Natriumacetat, pH 4,75, 80% Acetonitril (für alle Austauscher), UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm (4,6 mm  $\times$  100 mm für die kommerziellen Austauscher).



Analog der Carbonsäuretrennung bewirken Änderungen der Elutionenstärke und des Eluent-pH-Wertes auch Veränderungen in den Retentionsfaktoren. Diese fallen jedoch ebenfalls nicht so deutlich aus, wie dies für die Trennung anorganischer Anionen unter ZIC-Bedingungen der Fall war. Zudem verhalten sich alle untersuchten Austauscher sehr ähnlich. Es wird daher auf die Abbildung aller Graphen verzichtet und es werden in Abbildung 6.95 nur die Retentionsfaktoren gegen die Elutionenstärke und den pH-Wert für das Material **SB5** dargestellt.

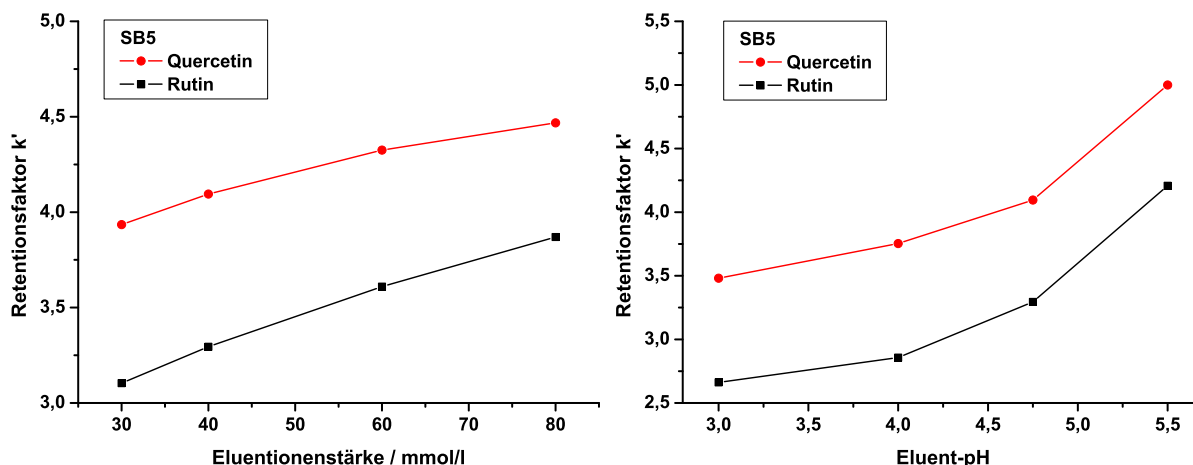


Abbildung 6.95: Einfluss der Elutionenstärke (links) und des Eluent-pH (rechts) auf die Flavonoidtrennung. Eluent: 40 mmol/l Natriumacetat, pH 4,75 als Ausgangspunkt für Variationen, 80% Acetonitril, Trennsäule: **SB5**, UV-Detektion bei 210 nm, Flussrate: 0,75 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 50 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu$ l, Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm.

Dieser Austauscher zeigt repräsentativ, wie sich die zwitterionischen Materialien bei Veränderungen des pH-Wertes und der Elutionenstärke verhalten. Für die kommerziellen Trennsäulen sind die Kurvenverläufe ebenfalls ähnlich, jedoch mit dem Unterschied, dass Quercetin grundsätzlich niedrigere Retentionsfaktoren aufweist als Rutin.

Rutin liefert mit steigender Eluentkonzentration bei allen Austauschern Steigerungen der Retentionsfaktoren. Quercetin zeigt diesen Effekt ebenfalls bei den meisten Materialien jedoch mit einer geringeren Steigung. Für den **SB3**- und **SB4**-Austauscher sowie die kommerziellen Trennsäulen sind die Steigerungen der Quercetinretention nur marginal, so dass es bei hohen Elutionenstärken teilweise zur Selektivitätsumkehr zwischen Rutin und Quercetin kommt.

Die Gründe für eine tendenziell steigende Analytretention mit steigender Elutionenstärke wurden im Rahmen der Carbonsäuretrennungen unter ZIC-HILIC-Bedingungen bereits diskutiert. Zum einen wird die lineare Ausrichtung der funktionellen Gruppen verbessert, zum anderen kann eine Erhöhung der Ionenstärke zu einer Verbesserung der Phasentrennung zwischen mobiler und quasi-stationärer Phase führen. Das Verhalten der Austauscher auf Änderungen der

Elutionenstärke ist somit mit den bisherigen Beobachtungen kongruent und über die bereits beschriebenen Überlegungen erklärbar.

Eine Steigerung des Eluent-pH-Wertes führt in Abbildung 6.95 ebenfalls zu einer Steigerung der Retentionsfaktoren beider Analyten. Dies ist bei Betrachtung der physikalisch-chemischen Daten der beiden Flavonoide aus Tabelle 6.16 auch zu erwarten. Die  $pK_s$ -Werte liegen im Bereich von knapp unter 7,00. Eine Erhöhung des pH-Wertes der mobilen Phase auf 5,50 bewirkt also schon eine erkennbare Deprotonierung der Analyten. Durch die damit einhergehende Ladung steigt die Hydrophilie, ebenso wie die Wechselwirkungen mit den quasi-stationären Phasen und damit auch die Retentionsfaktoren.

Die hergestellten zwitterionischen Austauscher eignen sich daher – insbesondere aufgrund des unpolaren Trägermaterials und der daraus resultierenden sekundären Wechselwirkungen – für die Trennung von Flavonoiden. Diese Trennungen sind jedoch eher als applikativ interessant zu bewerten, da die Ähnlichkeiten aller Austauscher mechanistische Überlegungen, die auf die Abstände zwischen den geladenen Gruppen zurückzuführen sind, verhindern. Die Trennung der Flavonoide kann aber zumindest zeigen, welches Potential die hergestellten zwitterionischen stationären Phasen für spezielle Analytgruppen aufweisen können. Diesbezüglich wäre z. B. ein Screening der homologen Reihe von Sulfobetainaaustauschern auf deren Trennvermögen für diverse Analytgruppen sinnvoll. Darüber könnten Analyt/Austauscher-Paare gefunden werden, die neue Selektivitäten aufweisen.

## 6.9 Chromatographische Charakterisierung der Latex-Anionenaustauscher

Neben den zwitterionischen Austauschern, die für ZIC- und ZIC-HILIC-Trennungen eingesetzt wurden, können auch die erzeugten pellicularen Austauscher mit zwitterionischen Grundmaterialien chromatographischen Charakterisierungen unterzogen werden. Da die hergestellten stationären Phasen Anionenaustauscher darstellen, werden für die Beurteilung der Trennfähigkeiten hauptsächlich anorganische Anionen eingesetzt.

Zunächst sollte jedoch die Frage geklärt werden, warum gerade der Einsatz zwitterionischer Grundpartikel für die Herstellung von pellicularen Anionenaustauschern interessant sein könnte. Insoweit ist es zunächst angebracht, die bisher erhältlichen Latex-Anionenaustauscher etwas näher zu betrachten. Als Vergleichsmaterial dient dabei die kommerziell erhältliche Metrosep A Supp 10-Phase (Fa. Metrohm AG, Herisau, Schweiz). Diese ist insbesondere deshalb interessant, weil die gleichen Latexpartikel, wie sie für die Herstellung des Metrosep A Supp 10-Materials

eingesetzt werden, auch für die Erzeugung der pellikularen Austauscher auf zwitterionischer Basis herangezogen werden. Die im Rahmen dieser Arbeit erzeugten zwitterionischen Materialien werden mit Latex-Partikeln belegt, die von der Fa. Metrohm AG aus dem Produktionsprozess der Metrosep A Supp 10-Trennsäulen bereit gestellt werden.

Bei den erzeugten Latexaustauschern handelt es sich somit um stationäre Phasen, die sich lediglich im Grundmaterial und evtl. in der Menge an elektrostatisch angebundenen Latexpartikeln, von den Metrosep A Supp 10-Austauschern unterscheiden. Der Vergleich zwischen den stationären Phasen mit zwitterionischen Grundkörpern und den kommerziellen Austauschern sollte somit in erster Linie Unterschiede aufzeigen, die auf der Verwendung verschiedener Grundmaterialien beruhen.

### 6.9.1 Peakasymmetrien bei kommerziellen Latex-Austauschern

Die bisher erhältlichen Metrosep A Supp 10-Austauscher sind in der Lage, sechs anorganische Standardanionen mit sehr guten Auflösungen und Bodenzahlen sowie interessanten Selektivitäten zu trennen. Die chromatographische Trennung eines Standardgemisches unter Verwendung eines Natriumcarbonat/Natriumhydrogencarbonat-Eluenten ist in Abbildung 6.96 dargestellt.

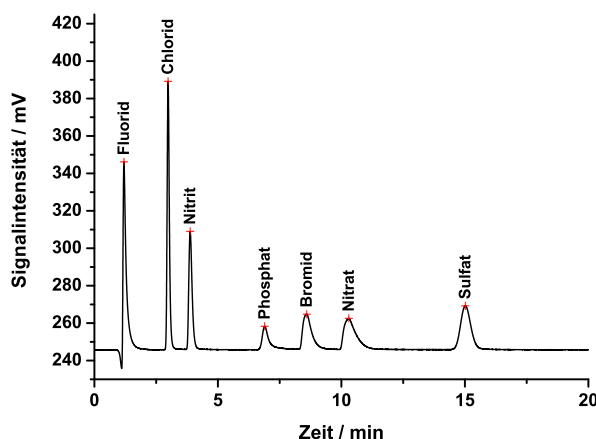


Abbildung 6.96: Trennung eines Gemisches aus Fluorid, Chlorid, Nitrit, Phosphat, Bromid, Nitrat und Sulfat. Trennsäule: Metrosep A Supp 10,  $4 \times 100$  mm, Eluent: 5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und 5 mmol/l  $\text{NaHCO}_3$ , suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 1,0 ml/min, Säulentemperatur: 318 K, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Analytkonzentration: je 10 mg/kg.

Die sechs anorganischen Anionen werden innerhalb von 17 min mit guten Auflösungen getrennt. Neben den sechs genannten Anionen ist in dieser Messung auch Fluorid mit aufgeführt, welches aber bei diesem Austauschermaterial grundsätzlich zu dicht am Totvolumen eluiert. Die guten Trennleistungen und Bodenzahlen für die Analyten Chlorid, Nitrit, Phosphat, Bromid, Nitrat und

Sulfat sind jedoch eindeutig zu erkennen. In Zahlenwerten ausgedrückt liegen die Bodenzahlen bei etwa 56 900 bis 77 500 Böden pro Meter. Die genauen Werte für die einzelnen Analyten sind in Tabelle 6.17 zusammengefasst.

Tabelle 6.17: Chromatographische Kenngrößen einer Metrosep A Supp 10-Trennsäule.

Analyt	Bodenzahl pro Meter	Asymmetriefaktor	Analytkonzentration
Fluorid	10 878	2,20	10 mg/l
Chlorid	53 328	1,37	10 mg/l
Nitrit	53 219	1,53	10 mg/l
Phosphat	64 058	1,34	10 mg/l
Bromid	60 430	2,59	10 mg/l
Nitrat	40 139	3,91	10 mg/l
Sulfat	77 476	1,34	10 mg/l

Bei genauerer Betrachtung des Chromatogramms und der Tabelle fallen jedoch auch die Schwächen der Metrosep A Supp 10-Trennsäulen auf. Hierzu gehört die bereits genannte Problematik, dass Fluorid nicht vollständig vom Totvolumen getrennt eluiert. Aufgrund dieser Tatsache liegen die Bodenzahlen für Fluorid auch nur bei knapp 11 000 Böden pro Meter und der Asymmetriefaktor bei 2,20. Der Fluoridpeak zeigt also ein deutliches *Tailing*, was allerdings nur durch die überproportional steile vordere Signalfanke hervorgerufen wird. Ein echtes *Tailing* – mit einer deutlichen Abweichung von der idealen *Gauß*-Form – zeigen die Analyten Bromid und Nitrat, die zwar akzeptable Bodenzahlen liefern, deren Asymmetriefaktoren mit 2,59 und 3,91 jedoch sehr hoch liegen.

Aktuelle Arbeiten von *Theis* und *Windhaus* behandeln gerade diese Probleme, die außer bei den pellikularen Austauschermaterialien auch bei direkt nach der EVO-Methode funktionalisierten stationären Phasen auftreten<sup>[118][157]</sup>. Im Rahmen dieser Arbeiten wurde versucht, die Fluoridretention sowie das Nitrat- und Bromid-*Tailing* durch Veränderung der EVO-Reaktionsbedingungen und vor allem durch Abwandlung der funktionellen Gruppen zu verbessern. So hat *Windhaus* z. B. im Rahmen der Herstellung pellikularer Anionenaustauscher die Verwendung polarerer Ammoniumgruppen für die Funktionalisierung der Latex-Partikel untersucht<sup>[157]</sup>.

Zwar ist inzwischen bekannt, dass polarere stationäre Phasen sowohl für Fluorid eine stärkere Retention, als auch für alle problematischen Analyten bessere Peaksymmetrien liefern, der genaue Grund für diese Effekte ist jedoch bis heute nicht abschließend geklärt.

Im Rahmen der hier durchgeführten Herstellung agglomerierter Anionenaustauscher auf Basis zwitterionischer Grundkörper wird die Struktur der Latex-Partikel im Vergleich zu den Metrosep

A Supp 10-Materialien nicht verändert. Die Polarität der Latexpartikel bleibt somit auch gleich. Dennoch besteht die Vermutung, dass der Einsatz zwitterionischer Grundkörper zu polarerer stationären Phasen führen könnte.

Im Falle der Metrosep A Supp 10-Austauscher werden direktsulfonierte Grundpartikel eingesetzt, also PS/DVB, welches unter Verwendung konzentrierter Schwefelsäure funktionalisiert wurde. Diese Grundkörper tragen eine hohe Anzahl an Sulfonsäuregruppen, von denen nur ein Teil für die elektrostatische Anbindung der Latexpartikel notwendig ist. Es wird deshalb davon ausgegangen, dass noch freie Sulfonsäuren im Grundmaterial zurück bleiben. Die resultierenden Austauscher besitzen demnach eine negativ geladene *Donnan*-Membran zwischen den Grundkörpern und den Latex-Partikeln<sup>[53]</sup>.

Die einschlägige Fachliteratur<sup>[53][41]</sup> sieht dies als wichtiges Argument für den Einsatz agglomerierter Austauscher in der Anionenaustauschchromatographie. Durch die *Donnan*-Membran wird ein Eindringen der Anionen in die Nähe der Grundkörper verhindert und daher verläuft der Massentransfer nur über kurze Wegstrecken. Dies erhöht die chromatographische Effizienz pellikularer Anionenaustauscher gegenüber oberflächenfunktionalisierten Materialien. Auf die Polarität der stationären Phase kann dabei jedoch nur Einfluss genommen werden, indem die Grundmaterialien der Latex-Partikel oder aber die funktionellen Gruppen dieser Partikel polarer gestaltet werden. Abwandlungen in der Latex-Synthese sind jedoch grundsätzlich nicht trivial<sup>[157]</sup>.

Durch die Verwendung zwitterionischer Grundkörper wird ein anderer Weg beschritten. Betrachtet man den Aufbau pellikularer Austauscher auf zwitterionischer Basis (siehe Abbildung 6.97), so kann nicht von der Ausbildung einer negativ geladenen *Donnan*-Membran ausgegangen werden.

Zum einen sollte die Anzahl an zwitterionischen Gruppen so gering gewählt werden können, dass nur gerade so viele Sulfonsäuren zur Verfügung stehen, wie für die Anbindung der Latex-Partikel notwendig sind. Zum anderen liefert jede Sulfonsäuregruppe, die für die elektrostatische Anbindung eingesetzt wird, ein freies quartäres Amin am Grundmaterial, welches nun keine freie Sulfonsäure als Gegenspieler mehr vorfindet. Der Raum zwischen Grundmaterial und Latex-Partikeln sollte also wieder für Anionen zugänglich sein und zudem überschüssige Anionenaustauscherfunktionen tragen. Die polaren Amine sollten somit zu einer Steigerung der Gesamtpolarität der stationären Phase beitragen und letztlich eine verbesserte Fluoridretention sowie verbesserte Peakformen für die problematischen Analyten liefern.

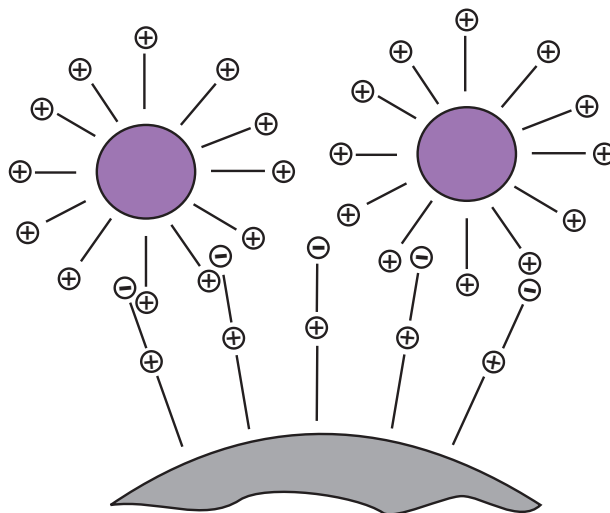


Abbildung 6.97: Aufbau eines Latex-Anionenaustauschers mit zwitterionischen Grundpartikeln.

### 6.9.2 Kationenaustauschkapazität kommerzieller Latexaustauscher

Neben einer gesteigerten Polarität kann die Vermeidung überschüssiger Sulfonsäuregruppen im Grundmaterial noch weitere Vorteile bieten. Ein prinzipbedingtes Problem der pellicularen Austauscher mit sulfonierten Grundmaterialien liegt darin, dass an den überschüssigen Sulfonsäuregruppen auch Kationen retardiert werden können.

Solange keine Analyten injiziert werden, gelangen kontinuierlich gleichbleibende Konzentrationen an Eluentkationen zum Suppressor. Im Rahmen der Anionentrennung mit suppressierter Leitfähigkeitsdetektion handelt es sich dabei meist um  $\text{Na}^+$ , die Eluentanionen sind  $\text{CO}_3^{2-}$  und/oder  $\text{HCO}_3^-$ . Da aus Elektroneutralitätsgründen sowie aufgrund der Stöchiometrie des eingesetzten Eluentsalzes immer stöchiometrische Mengen an Eluentanionen und -kationen zum Suppressor gelangen, werden diese auch stöchiometrisch zu Kohlensäure umgesetzt. Die Eigenleitfähigkeit des Eluenten bleibt also konstant.

Werden nun Analytsalze in das System eingebracht, sollten die Kationen der Analyten in der Anionenaustauschchromatographie eigentlich nicht retardiert werden und somit im Totvolumen eluieren. Die Anionen hingegen erfahren Retention. Die Kationen liefern daher im Totvolumen eine Erhöhung der Leitfähigkeit, die jedoch meist geringer ausfällt, als die Erniedrigung der Leitfähigkeit aufgrund der geringeren Gesamtionenstärke der Analytlösung gegenüber der Eluentlösung. Die Analytanionen liefern – sobald sie von der Trennsäule eluieren und den Detektor erreichen – eine Erhöhung der Grundleitfähigkeit und damit detektierbare Signale.

Liegen nun Anionenaustauscher vor, die neben den Anionenaustauscherfunktionen noch Kationenaustauscherfunktionen besitzen, ist es denkbar, dass die Analytkationen ebenfalls um eine

gewisse Zeitspanne retardiert werden und letztlich ein detektierbares Signal außerhalb des Totvolumens erzeugen. Solche Signale sind solange unproblematisch, solange keine Coelution mit Analytanionen auftritt. Grundsätzlich ist eine anionenaustauschchromatographische Trennung ohne Kationenretention jedoch wünschenswert.

Im Gegensatz zu oberflächenfunktionalisierten stationären Phasen, besitzen pellikulare Austauscher mit direkt sulfonierten Grundkörpern überschüssige Kationenaustauscherfunktionen. Zunächst ist also fraglich, in welchem Umfang diese Austauschergruppen eine Retention der Analytkationen hervorrufen können. Es wäre auch denkbar, dass die Analytkationen – durch eine um die Latex-Partikel herum ausgebildete, positiv geladene *Donnan*-Membran – überhaupt nicht bis an die Kationenaustauschergruppen gelangen. Um dies zu untersuchen, werden Messungen unter Verwendung eines ICP-MS als Detektionsmethode durchgeführt.

Als Standardeluent in der Anionenaustauschchromatographie mit pellikularen Anionenaustauschern wird ein Gemisch aus Natriumcarbonat/Natriumhydrogencarbonat eingesetzt. Diese Eluenten sind aufgrund der hohen Natriumgehalte jedoch nicht ICP-MS-kompatibel. Daher werden Untersuchungen unter Verwendung von Ammoniumnitrat-Eluenten durchgeführt.  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  bildet bei der Zersetzung im Plasma ausschließlich gasförmige Zerfallsprodukte, welche das Plasma an sich und die Detektion nicht stören oder behindern. Um dennoch eine möglichst große Nähe zu den Messungen mit Natriumcarbonat/Natriumhydrogencarbonat-Eluenten sicherzustellen, werden die Untersuchungen zunächst bei einem pH-Wert von 8,5 durchgeführt. Bei einer Eluentenstärke von 10 mmol/l, einer Trennsäule der Dimension 2 mm × 100 mm sowie einer Flussrate von 0,3 ml/min wird ein Standardgemisch aus Lithium, Natrium, Barium sowie Bromid injiziert. Während Bromid mit einem Masse-zu-Ladungsverhältnis ( $m/z$ ) von 79 eine deutlich erkennbare Retention mit einem Retentionsfaktor von 6,75 aufweist, können die Kationen auch nach einer Messzeit von 240 min nicht detektiert werden. Sie eluieren auch nicht im Totvolumen.

Der Grund hierfür wird in Komplexbildungs- und Adsorptionseffekten gesehen. Grundsätzlich neigen Metallkationen in wässriger Lösung unter Anwesenheit von  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  zur Ausbildung von Hydroxo- und/oder Aminkomplexen. So können freie Metallkationen bereits unter neutralen, insbesondere aber unter basischen Bedingungen z. B. unlösliche Hydroxide bilden, die sich auf der Trennsäule ablagern<sup>[158]</sup>. Diese liefern keine scharfen Signale, sondern werden erst langsam wieder in Lösung gebracht und so von der Trennsäule entfernt. Dies führt letztlich zu einer kontinuierlichen Erhöhung der Basislinie. Aufgrund dieses Befundes muss die Trennmethode entsprechend angepasst werden. Hierzu wird der pH-Wert drastisch auf 2,5 reduziert. Unter diesen sauren Bedingungen ist eine reproduzierbare Elution der Kationen möglich.

Nach wie vor sollte bedacht werden, dass Kationen auf einem Anionenaustauscher im Idealfall keine Retention erfahren sollten. Für den kommerziellen Anionenaustauscher Metrosep A Supp

10 verhält es sich jedoch anders. Eine Überlagerung dreier Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse eines Chromatogramms einer Metrosep A Supp 10-Trennsäule der Dimension 2 mm × 100 mm ist in Abbildung 6.98 gezeigt. Bei den gezeigten Massenspuren handelt es sich um Bromid ( $m/z = 79$ ), Lithium ( $m/z = 7$ ) und Natrium ( $m/z = 23$ ).

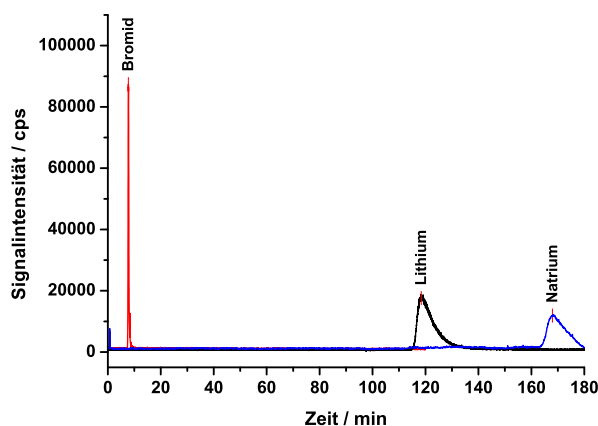


Abbildung 6.98: Trennung eines Gemisches aus Bromid, Litium und Natrium. Trennsäule: Metrosep A Supp 10, 2 × 100 mm, Eluent: 10 mmol/l  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , pH 2,5, ICP-MS-Detektion, Flussrate: 0,3 ml/min, Säulentemperatur: 318 K, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Analytkonzentration: je 10 mg/kg.

Während Bromid eine für die Trennsäule und die gewählten Bedingungen angemessene Retention mit einem Retentionsfaktor von 6,05 aufweist, eluieren die Kationen Lithium und Natrium deutlich später. Unter diesen Bedingungen mit niedrigem pH-Wert zeigt das Anion Bromid also kaum eine Veränderung des Retentionsfaktors gegenüber der Trennung bei einem pH-Wert von 8,5. Die Kationen sind jedoch detektierbar und liefern Retentionszeiten von 118,3 min für Lithium bzw. 168,1 min für Natrium. Zudem können die beiden Kationen mit einer guten Auflösung deutlich voneinander getrennt werden.

Objektiv betrachtet handelt es sich bei diesem Austauscher also um einen hochkapazitiven Kationenaustauscher, dessen vergleichsweise geringe Anionenaustauscherkapazität für die eigentliche Trennung eingesetzt wird. Ein Ausschluss der Kationen, durch eine positiv geladene *Donnan*-Membran um die Latex-Partikel herum, kann nicht beobachtet werden. Aus praktischer Sicht hat die hohe Kationenretention allerdings – zumindest direkt – keinen negativen Einfluss auf die Anionentrennung. So konnte zwar gezeigt werden, dass bei einem pH-Wert von 2,5 mit dem sehr empfindlichen ICP-MS als Detektor Kationensignale nach über 100 min Messzeit detektiert werden können. Der deutlich unempfindlichere Leitfähigkeitsdetektor würde unter diesen Bedingungen jedoch nach derart langen Messzeiten keine erkennbaren Signale mehr liefern. Zudem werden die eigentlichen Anionentrennungen mit Leitfähigkeitsdetektion bei deutlich höheren pH-Werten durchgeführt. Bei einem pH-Wert von 8,5 waren allerdings selbst mit dem ICP-MS als Detektor keine störenden Kationensignale feststellbar.



Die kommerzielle Trennsäule zeigt demnach eine hohe Kationenretention, die sich aber zumindest nicht in Form von störenden Systempeaks äußert. Dennoch ist fraglich, ob die Elution nicht detektierbarer Mengen an Kationen nicht trotzdem einen Einfluss auf die Anionentrennung haben kann. Um dies herauszufinden und – wie bereits beschrieben – die Polarität der stationären Phasen zu erhöhen, werden zwitterionische Grundkörper mit Latexpartikeln belegt und im Anschluss charakterisiert.

### 6.9.3 Untersuchungen an Latex-Austauschern auf zwitterionischer Basis

Für die Belegung zwitterionischer Grundmaterialien mit Latex-Partikeln werden die von der Fa. Metrohm AG (Herisau, Schweiz) zur Verfügung gestellten aminierten Metrosep A Supp 10-Partikel eingesetzt. Da diese als nicht näher spezifizierte Latex-Emulsion angeliefert werden, gilt es zunächst, die optimale Belegungsmenge für die zwitterionischen Grundmaterialien zu bestimmen.

Ideal wäre es dabei, ein Grundmaterial zu verwenden, welches gerade genug funktionelle Gruppen trägt, um eine ausreichende Anzahl an Latex-Partikeln elektrostatisch anbinden zu können. Eine weitere Zugabe von Latexpartikeln sollte – aufgrund des Mangels an weiteren Sulfonsäuregruppen – nicht zu einer weiteren Erhöhung der Anzahl angebundener Latexpartikel führen. Die Gesamtanzahl an immobilisierten Latex-Partikeln sollte dabei so groß sein, dass Anionenaustauscherkapazitäten erreicht werden, die denen der kommerziellen Metrosep A Supp 10-Trennsäulen ähneln. Für eine Trennsäule der Dimension 4 mm × 100 mm wären demnach bei Verwendung des Standardeluenten (5 mmol/l Natriumcarbonat und 5 mmol/l Natriumhydrogencarbonat) Retentionszeiten wünschenswert, die denen aus Abbildung 6.96 entsprechen. Sofern diese Maßgaben erfüllt sind, sollten somit alle Sulfonsäuregruppen des zwitterionischen Grundmaterials für die elektrostatische Anbindung der Latex-Partikel verbraucht sein, das Material dürfte keine freien Sulfonsäuren und somit auch keine Kationenaustauscherkapazität mehr enthalten.

Um die entsprechende Latex-Menge zu ermitteln, die benötigt wird, um die zwitterionischen Grundpartikel zu belegen, werden zunächst Experimente mit einer niederkapazitiven Grundmaterialcharge und steigenden Mengen an Latex-Emulsion durchgeführt. Bei dem eingesetzten Grundmaterial handelt es sich um den Ansatz **SB3-5**, der mit 0,83 mmol Ionomer pro Gramm PS/DVB in der EVO-Synthese hergestellt wurde. Die Latex-Emulsion mit der Chargenbezeichnung A10151206Bmh wird ohne weitere Vorbereitung eingesetzt. Die Auftragung der ermittelten Retentionsfaktoren gegen die eingesetzte Menge an Latex-Emulsion ist in Abbildung 6.99

dargestellt. Alle Messungen werden unter Verwendung eines Natriumcarbonateluents der Konzentration 5 mmol/l durchgeführt.

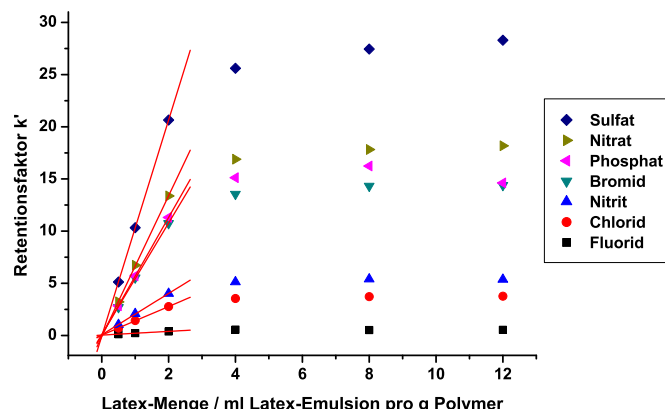


Abbildung 6.99: Vergleich der Retentionsfaktoren eines Standardanionengemisches bestehend aus sieben Anionen bei steigender Latex-Zugabe. Die Retentionsfaktoren unter identischen Bedingungen sind direkt proportional zu den Kapazitäten der Austauscher. Eluent: 5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,5 ml/min (SB3-6-1L) bis 0,35 ml/min (SB3-11-1L), Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Aus dieser Auftragung ist deutlich zu erkennen, dass es zunächst zu einem linearen Anstieg der Retentionsfaktoren aller Analyten mit steigender Latex-Menge kommt. Durch Erhöhung der zugesetzten Menge an Latex-Emulsion werden mehr Latex-Partikel bereit gestellt, die bis zu einer Zugabemenge von etwa 2 ml pro Gramm Polymer zu einem linearen Anstieg der Anionenaustauscherkapazitäten führen. Eine weitere Steigerung der Latex-Menge endet in einer asymptotischen Annäherung der Retentionsfaktoren an einen Grenzwert. Dies bedeutet, dass das Grundmaterial ab einer Latex-Zugabemenge von etwa 4 ml pro Gramm Polymer quasi vollständig mit Latex-Partikeln belegt ist, dass also alle zur Verfügung stehenden Sulfonsäuregruppen bereits für die elektrostatische Anbindung der Latex-Partikel herangezogen wurden. Für eine zwitterionische Grundmaterialcharge des Sulfobetains **SB3** mit einer Ionomermenge von 0,83 mmol pro Gramm Polymer ist also eine Latex-Zugabemenge von 4 ml pro Gramm Polymer sinnvoll.

Gleichzeitig muss jedoch erwähnt werden, dass die Staudrücke der Materialien, die mit höheren Latex-Mengen umgesetzt wurden, eine steigende Tendenz aufweisen. Aus diesem Grund konnte der Austauscher mit 12,0 ml Latex-Emulsion pro Gramm Polymer auch nur bei einer Flussrate von 0,35 ml/min, im Gegensatz zu 0,5 ml/min bei den Austauschern mit geringen Latex-Mengen, vermessen werden.

Betrachtet man zudem die mit diesen Austauschern erhaltenen Chromatogramme, wird klar, dass die Zugabe hoher Latex-Mengen neben dem Staudruck noch weitere Probleme mit sich bringt.

Bei allen in Abbildung 6.99 gezeigten Trennsäulen handelt es sich um stationären Phasen, die nach der Latex-Zugabe entweder mit Reinstwasser (**SB3-6-1L** bis **SB3-9-1L**) oder aber mit Aceton (**SB3-10-1L** und **SB3-11-1L**) gespült wurden. Die Chromatogramme dieser Austauscher, die ebenfalls unter Verwendung eines Natriumcarbonateluenten der Konzentration 5 mmol/l bei einer einheitlichen Flussrate von 0,35 ml/min erhalten wurden, sind in Abbildung 6.100 gegenübergestellt.

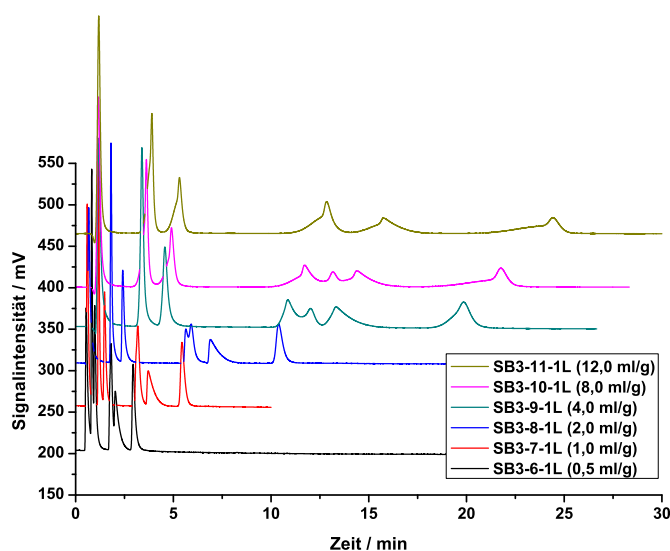


Abbildung 6.100: Vergleich der Chromatogramme der Trennsäulen **SB3-6-1L** bis **SB3-11-1L** bei identischen Messbedingungen. Eluent: 5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,35 ml/min, Temperatur: 308 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Auch aus dieser Auftragung wird deutlich, in welchem Maße die Retentionszeiten mit steigender Latex-Zugabe zunehmen. Ab einer Latex-Zugabemenge von 4 ml pro Gramm Polymer steigen die Retentionszeiten jedoch nur noch marginal. Zudem ist aber auch gut zu erkennen, dass die Peakformen mit zunehmender Latex-Menge schlechter werden. Während die Signalform bei einer Zugabemenge von 1,0 ml pro Gramm Grundmaterial noch sehr gut ist, zeigt bereits das Chromatogramm mit einer Zugabemenge von 4,0 ml pro Gramm Grundmaterial ein deutliches *Fronting* bzw. Schultern vor den eigentlichen Signalen. Die Peakformen verschlechtern sich bis hin zum Austauscher **SB3-11-1L** so sehr, dass bei diesem Material die Gruppe aus drei Signalen zwischen 10 min und 17 min nicht mehr in drei Signale getrennt wird. Bei diesen Signalen handelt es sich um Phosphat, Bromid und Nitrat.

Das Spülen der mit Latex-Emulsion versetzten Suspensionen mit Reinstwasser oder Aceton liefert folglich keine homogen belegten Austauscherpartikel. Die stationären Phasen scheinen über

sekundäre Wechselwirkungen angebundene, überschüssige Latex-Partikel zu beinhalten. Diese führen zu einer Inhomogenität des Packungsmaterials, die sich im ungleichmäßigen Trennverhalten der Austauscher widerspiegelt. Wichtig ist hierbei anzumerken, dass es keinen Unterschied zwischen den mit Reinstwasser und den mit Aceton gewaschenen Materialien gibt. Als Vergleichsuntersuchung wurde das Material der Trennsäulen **SB3-9-1L** vor dem Packen mit Reinstwasser und das Material der Trennsäule **SB3-9-2L** vor dem Packen mit Aceton behandelt. Beide Austauscher liefern nach dem Packen identisch schlechte Chromatogramme.

Aus diesem Grund wird als weitere Reinigungsmöglichkeit das Spülen der Materialien mit Natriumcarbonatlösung untersucht. Wie bereits dargelegt wurde, wird davon ausgegangen, dass die schlechten Peakformen bzw. die Schultern von nicht fest an das Material angebondenen, überschüssigen Latex-Partikeln herrühren. Da die Latex-Partikel quartäre Amine tragen und daher dauerhaft positiv geladen sind, erscheint es sinnvoll, die Ablösung durch Einsatz einer Waschlösung hoher Ionenstärke zu erzielen. Aus diesem Grund wird das Material **SB3-16L** zunächst ungewaschen bzw. reinstwassergewaschen und anschließend nach Waschen mit 200 ml Natriumcarbonatlösung (100 mmol/l) gepackt. Zudem wird die Trennsäule nach dem Packen im chromatographischen System weiter gespült, indem sie von einem Natriumcarbonat-Eluenten der Konzentration 100 mmol/l durchflossen wird. Zwischen den einzelnen Spülschritten werden jeweils Messungen eines Anionengemisches unter Verwendung des Standardeluenten (5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und 5 mmol/l  $\text{NaHCO}_3$ ) durchgeführt. Die entsprechenden Chromatogramme sind in Abbildung 6.101 gegenübergestellt.

Im Chromatogramm des reinstwassergespülten Materials sind noch deutlich Schultern zu erkennen, insbesondere vor dem fünften und sechsten Signal, also vor den Analyten Bromid und Nitrat. Die gleiche stationäre Phase, die vor dem Packen mit Natriumcarbonatlösung gewaschen wurde, zeigt zwar immer noch Schultern vor diesen beiden Signalen, diese sind jedoch bereits deutlich geringer ausgeprägt als bei dem ungespülten Austauscher. Ein weiteres Spülen der gepackten Trennsäule im chromatographischen System verbessert die Peakformen weiter. Die Trennsäule **SB3-16-2L** zeigt nach 24 Stunden Spülens mit dem Natriumcarbonateluenten zwar die gleichen unschönen Peakformen für Bromid und Nitrat, wie die kommerzielle Metrosep A Supp 10-Trennsäule, die Schultern vor den Signalen sind jedoch verschwunden. Aus diesem Grund werden alle in Zukunft hergestellten Austauscher zunächst vor dem Packen der Trennsäulen mit 200 ml Natriumcarbonatlösung (100 mmol/l) pro Gramm Polymer gewaschen, und anschließend für 24 Stunden im chromatographischen System mit der gleichen Natriumcarbonatlösung gespült.

Ein weiterer Faktor, der einen Einfluss auf die Synthesen und damit auf die chromatographischen Eigenschaften der Austauschermaterialien haben kann, ist die Zugabe von Natriumacetat zu den Polymersuspensionen. Diese erfolgt jeweils vor der Latex-Zugabe und wird – mit Aus-

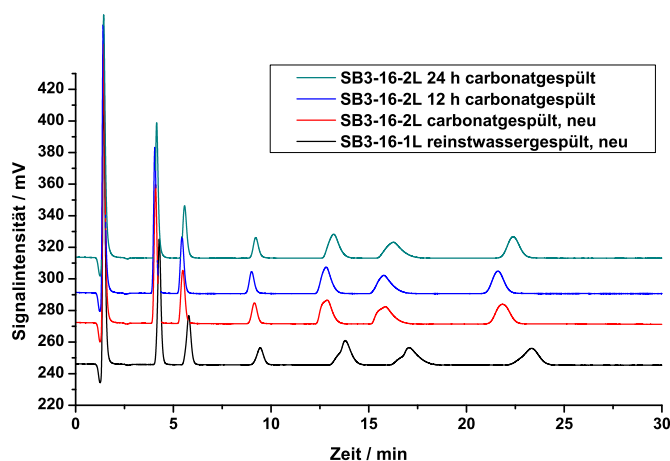


Abbildung 6.101: Chromatogramme von Standardanionengemischen unter Verwendung der Austauscher **SB3-16-1L** und **SB3-16-2L** nach unterschiedlichen Wasch- und Spülschritten. Eluent: 5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und 5 mmol/l  $\text{NaHCO}_3$ , suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,8 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 10 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 4 mm  $\times$  10 mm.

nahme des Materials **SB3-17L** – bei allen pellikularen Austauschern auf zwitterionischer Basis eingesetzt. Die Trennsäule **SB3-17-1L** wird bewusst – bis auf die Natriumacetatzugabe – auf gleiche Weise hergestellt, wie die Trennsäule **SB3-15-3L**, d. h. die Grundmaterialsynthese, die Aufbringung der Latex-Partikel, die Wasch- und Spülschritte sowie die Packprozedur werden exakt gleich gehalten. Somit kann im Vergleich der beiden Materialien direkt der Einfluss der Fremdionenzugabe untersucht werden. Die Chromatogramme der Standardanionentrennungen beider Trennsäulen sind in Abbildung 6.102 gegenübergestellt.

Wie aus diesen Chromatogrammen zu erkennen ist, liegen die Retentionszeiten und somit die Austauscherkapazität des Materials ohne Fremdionenzugabe – also des Austauschers **SB3-17-1L** – etwas höher als die der Trennsäule **SB3-15-3L**. Dies entspricht nicht dem erwarteten Bild. Ursprünglich wurde davon ausgegangen, dass die Zugabe von Natriumacetat die Ausbildung der EDL bzw. des hantelförmigen Ladungsprofils fördert und somit die Zugänglichkeit der zwitterionischen Gruppen erhöht. Wäre dies der Fall, müsste aber das Material **SB3-15-3L** – welches unter Acetatzugabe erzeugt wurde – die höhere Kapazität bzw. die höheren Retentionszeiten aufweisen, da mehr zwitterionische Gruppen für die Anbindung zur Verfügung stehen, als ohne Fremdionenzugabe.

Tatsächlich führt die Acetatzugabe aber dazu, dass eine geringere Menge an Latex-Partikeln an die Grundkörper angebunden werden, als theoretisch möglich wäre. Ob diese niedrigere Kapazität jedoch auch negative Auswirkungen auf die Trennleistungen hat, zeigt sich erst bei genauerer

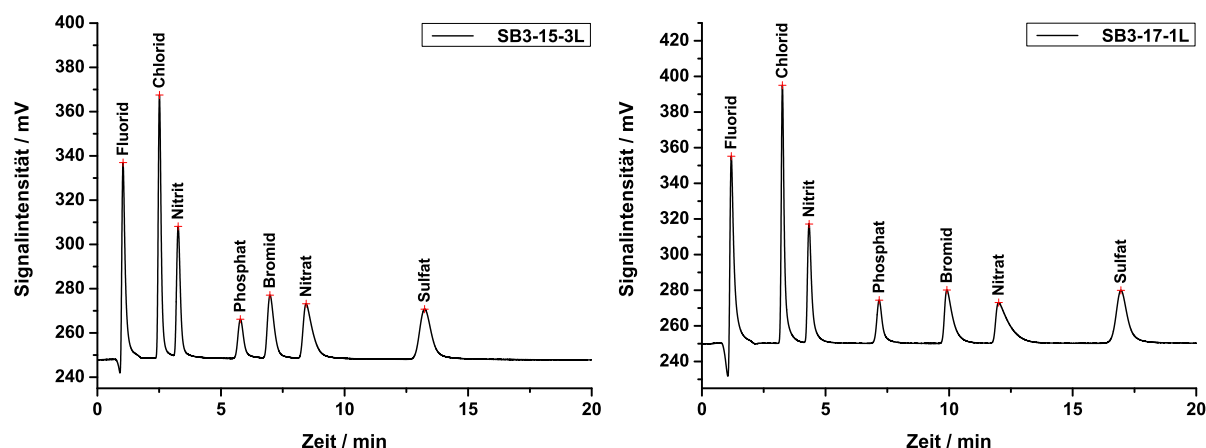


Abbildung 6.102: Gegenüberstellung zweier Trennungen von Anionengemischen aus sieben anorganischen Anionen. Trennsäule: links **SB3-15-3L** mit Natriumacetatzugabe vor der Latex-Belegung, rechts: **SB3-17-1L** ohne Natriumacetatzugabe vor der Latex-Belegung, Eluent: 5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und 5 mmol/l  $\text{NaHCO}_3$ , suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,3 ml/min, Temperatur: 318 K, Analytkonzentration: 20 mg/kg, Probenschleife: 5  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 2 mm  $\times$  100 mm.

Betrachtung der chromatographischen Kenngrößen beider Trennsäulen. Diese sind in den Tabellen 6.18 und 6.19 zusammengefasst

Tabelle 6.18: Kenngrößen der Trennsäule **SB3-15-3L** (mit Natriumacetatzugabe).

Analyt	Bodenzahl pro Meter	Asymmetriefaktor	Analytkonzentration
Chlorid	20 436	1,67	20 mg/l
Nitrit	21 386	1,64	20 mg/l
Phosphat	28 171	1,52	20 mg/l
Bromid	30 955	1,98	20 mg/l
Nitrat	22 544	2,91	20 mg/l
Sulfat	35 359	1,55	20 mg/l

Nach der Betrachtung der Retentionszeiten läge die Vermutung nahe, dass die Trennsäule mit niedrigerer Kapazität noch freie, nicht für die elektrostatische Anbindung benötigte zwitterionische Gruppen besitzt. Dies würde auf eine geringere Homogenität der Austauschergruppenverteilung deuten, und somit schlechtere Peakformen begründen. Betrachtet man jedoch die Asymmetriefaktoren der beiden Trennsäulen, wird schnell deutlich, dass das Material **SB3-15-3L** die besseren Kenngrößen liefert. Zwar liegen die Bodenzahlen für die meisten Analyten auf dieser Trennsäule geringfügig unter den Bodenzahlen der Trennsäule **SB3-17-1L**, die Asymmetriefak-

toren sind dafür jedoch bedeutend besser.

Tabelle 6.19: Kenngrößen der Trennsäule **SB3-17-1L** (ohne Natriumacetatzugabe).

Analyt	Bodenzahl pro Meter	Asymmetriefaktor	Analytkonzentration
Chlorid	25 929	2,34	20 mg/l
Nitrit	20 606	2,69	20 mg/l
Phosphat	38 160	1,89	20 mg/l
Bromid	26 088	4,39	20 mg/l
Nitrat	15 408	6,17	20 mg/l
Sulfat	40 254	1,91	20 mg/l

Während das Material ohne Natriumacetatzugabe für Bromid einen Asymmetriefaktor von 4,39 und für Nitrat einen Faktor von 6,17 liefert, liegen die Asymmetriefaktoren des Austauschers **SB3-15-3L** mit 1,98 bzw. 2,91 deutlich niedriger. Obwohl es sich bei den betrachteten Säulen um Trennsäulen der Dimension 2 mm × 100 mm handelt, liegen die Asymmetriefaktoren für das Material **SB3-15-3L** bereits deutlich unter den Asymmetriefaktoren der kommerziellen Metrosep A Supp 10-Austauscher (vergleiche Tabelle 6.17). Die Bodenzahlen für die problematischen Analyten Bromid und Nitrat sind symmetriebedingt beim Material **SB3-15-3L** höher, als dies bei der Trennsäule **SB3-17-1L** der Fall ist. Grundsätzlich verhalten sich 2 mm-Trennsäulen in Bezug auf die Peakformen und Bodenzahlen allerdings erfahrungsgemäß nicht ideal, da die verwendeten Grundpartikel mit einem mittleren Durchmesser von etwa 5 µm nicht auf die geringeren Innendurchmesser optimiert sind.

Der Grund für das unerwartete Verhalten des Austauschermaterials, welches unter Zusatz von Natriumacetat hergestellt wurde, ist in jedem Fall in der An- bzw. Abwesenheit der Fremdionen zu suchen. Die Ursache für eine deutliche Verbesserung der Peaksymmetrien aller Analyten muss in erster Linie mit einer gesteigerten Homogenität der Austauschergruppenverteilung über die Partikeloberfläche zusammenhängen. Diese wird offensichtlich bei Zugabe von Natriumacetat als Fremdionen erreicht. Die Ausbildung der EDL muss also trotz des unerwarteten Vergleichsergebnisses dennoch als Erklärung für das Verhalten der zwitterionischen Grundmaterialien dienen.

Anders als erwartet, liefert die Anbindung der Latex-Partikel bei nicht ausgebildeter EDL höhere Kapazitäten bzw. die Anbindung größerer Mengen an Latex-Partikeln an das Grundmaterial, als es bei ausgebildeter EDL – aufgrund des Zusatzes an Fremdionen – der Fall ist. Vermutlich kommt es ohne Zugabe der Fremdionen zu einer langsameren, ungleichmäßigen Anbindung der Latex-Partikel. Die quartären Amine dieser Partikel müssen zunächst lokal eine hantelförmige, in Richtung der Lösung gerichtete Ausrichtung der zwitterionischen Gruppen erwirken,

und können erst im Anschluss daran an einen Teil der Sulfonsäuregruppen anbinden. Diese Art der Anbindung liefert aber offensichtlich keine homogene Monolage an Latex-Partikeln um die Austauscheroberfläche. Möglicherweise werden einige Latex-Partikel nur über sehr wenige Sulfonsäuregruppen in einer minimal weiteren Entfernung von der Grundpartikeloberfläche angebunden. Einige Latex-Partikel könnten also relativ große Querschnittsflächen für die Anbindung an das Grundmaterial aufweisen, während andere Partikel nur über kleine Querschnittsflächen verfügen. Schematisch ist diese Vorstellung in Abbildung 6.103 dargestellt.

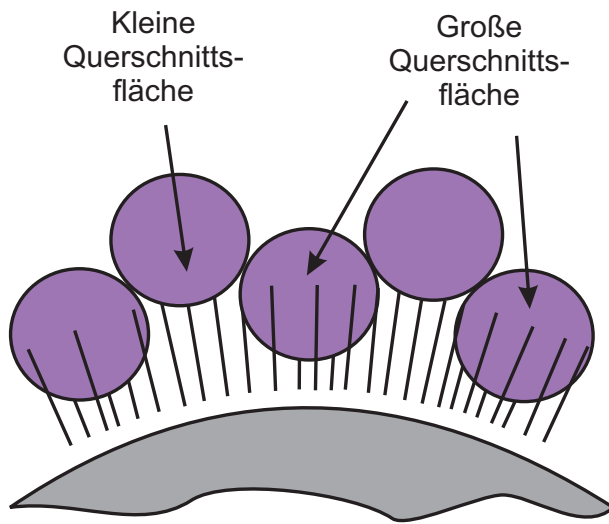


Abbildung 6.103: Schematische Darstellung verschiedener Querschnittsflächen bei inhomogener Anbindung von Latex-Partikeln.

Latex-Partikel mit großen Querschnittsflächen werden über viele Sulfonsäuregruppen recht nah am Grundpartikel angebunden. Die nicht für die Anbindung dieser Partikel verwendeten zwitterionischen Restgruppen können jedoch noch für die Anbindung von Latex-Partikeln in einer etwas größeren Entfernung vom Grundkörper eingesetzt werden. Diese Latex-Partikel werden jedoch nur über wenige Sulfonsäuregruppen, also mit einer kleinen Querschnittsfläche fixiert.

Trifft diese Vermutung zu, würden unterschiedlich stark angebundene Latex-Partikel auch unterschiedlich gut zugängliche funktionelle Gruppen aufweisen. Zudem würden sich unterschiedlich lange Diffusionswege ergeben. Dies kann wiederum als Erklärung für die schlechteren Peaksymmetrien herangezogen werden.

Anders verhält es sich bei den Austauschermaterialien, die unter Zusatz der Fremdionen hergestellt werden. Bei diesen Materialien sind alle zwitterionischen Gruppen von vornherein vollständig zugänglich. Die Latex-Partikel werden also direkt mit möglichst großen Querschnittsflächen an die Grundkörper angebunden. Dieser Vorgang wird so lange stattfinden, bis beinahe alle Sulfonsäuregruppen der zwitterionischen Phase mit Latex-Partikeln belegt sind. Im Ergebnis entstehen stationäre Phasen, die quasi mit einer Monolage an räumlich ähnlich weit vom Kern



entfernten Latexpartikeln belegt sind. Diese homogene Verteilung führt zu deutlich besseren Peaksymmetrien.

Unter Anwendung dieser Kenntnisse, lassen sich nun agglomerierte Anionenaustauscher auf zwitterionischer Basis herstellen, die gegenüber der kommerziellen Metrosep A Supp 10-Phase deutlich verbesserte Peaksymmetrien bei vergleichbaren Bodenzahlen aufweisen. Für das Material **SB3-18-2L** wurde in der EVO-Synthese eine reduzierte Menge an zwitterionischem Monomer eingesetzt (0,42 mmol/g), während das Material **SB3-19-1L** analog der zuvor gezeigten zwitterionischen Grundmaterialien mit 0,83 mmol Ionomer pro Gramm PS/DVB umgesetzt wurde. In beiden Fällen wird ein Überschuss an Latex-Emulsion zur Herstellung der agglomerierten Austauscher eingesetzt (4,0 ml/g bzw. 5,0 ml/g). Die Chromatogramme von Standardanionentrennungen der Austauscher **SB3-18-2L** und **SB3-19-1L** sind in Abbildung 6.104 dargestellt.

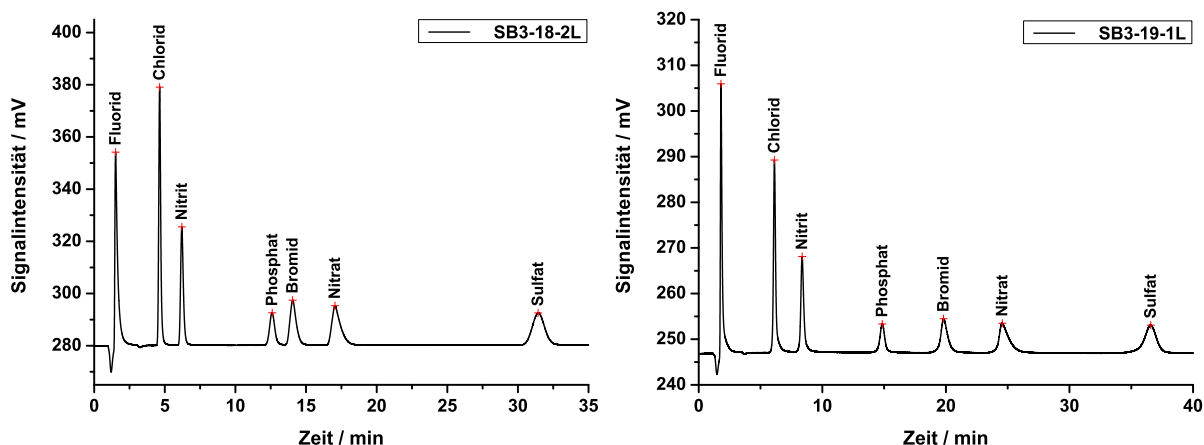


Abbildung 6.104: Trennungen eines Anionengemisches, bestehend aus sieben Anionen, mithilfe der Trennsäulen **SB3-18-2L** (links) und **SB3-19-1L** (rechts). Eluent: 5 mmol/l  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  und 5 mmol/l  $\text{NaHCO}_3$ , suppressierte Leitfähigkeitsdetektion, Flussrate: 0,75 ml/min, Säulentemperatur: 318 K, Analytkonzentration: 10 mg/kg, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Säulendimension: 4 mm  $\times$  100 mm.

Beide Austauscher zeigen gute Trennungen der sieben Anionen mit unproblematischen Auflösungen. Im Vergleich zum Chromatogramm der Metrosep A Supp 10-Trennsäule in Abbildung 6.96 liefern beide Trennsäulen jedoch mehr als doppelt so hohe Retentionszeiten. Berücksichtigt man die leicht reduzierte Flussrate bei den zwitterionischen Materialien (0,75 ml/min gegenüber 1,0 ml/min), ergeben sich immer noch Retentionsfaktoren, die etwa doppelt so hoch sind wie bei der Metrosep A Supp 10-Trennsäule. Für Sulfat liefert diese einen Retentionsfaktor von 12,7, die Trennsäule **SB3-18-2L** zeigt einen Retentionsfaktor für Sulfat von 24,8.

Die Kapazitäten der zwitterionischen Latex-Austauscher liegen also deutlich höher als die des kommerziellen Materials. Die Analyten erfahren im Verlauf der längeren Trennung also auch

stärkere bandenverbreitende Effekte. Dennoch sind die chromatographischen Kenngrößen der Austauscher auf zwitterionischer Basis bemerkenswert (siehe Tabellen 6.20 und 6.21).

Tabelle 6.20: Chromatographische Kenngrößen der Trennsäule **SB3-18-2L**.

Analyt	Bodenzahl pro Meter	Asymmetriefaktor	Analytkonzentration
Fluorid	7 121	1,87	10 mg/l
Chlorid	48 372	1,38	10 mg/l
Nitrit	45 046	1,47	10 mg/l
Phosphat	55 475	1,15	10 mg/l
Bromid	47 326	1,50	10 mg/l
Nitrat	36 795	2,11	10 mg/l
Sulfat	58 952	1,09	10 mg/l

Tabelle 6.21: Chromatographische Kenngrößen der Trennsäule **SB3-19-1L**.

Analyt	Bodenzahl pro Meter	Asymmetriefaktor	Analytkonzentration
Fluorid	7 129	1,69	10 mg/l
Chlorid	48 203	1,36	10 mg/l
Nitrit	52 403	1,45	10 mg/l
Phosphat	63 874	1,03	10 mg/l
Bromid	57 229	1,35	10 mg/l
Nitrat	44 688	2,06	10 mg/l
Sulfat	66 752	0,89	10 mg/l

Die Bodenzahlen liegen für alle Analyten minimal niedriger, aber dennoch in vergleichbaren Größenordnungen, wie es für das Metrosep A Supp 10-Material der Fall ist. So ergibt sich für Phosphat auf der Metrosep A Supp 10-Trennsäule ein Wert von 64 058 Böden pro Meter (siehe Tabelle 6.17), während die Trennsäule **SB3-19-1L** 63 874 Böden pro Meter liefert. In Abbildung 6.105 sind die Bodenzahlen und Asymmetriefaktoren der zwitterionischen Austauscher mit denen der Metrosep A Supp 10-Trennsäule graphisch gegenübergestellt.

Der leichte Nachteil bezogen auf die Bodenzahlen kann – in Anbetracht der Tatsache, dass es sich um Prototypen im Vergleich zu einem lange etablierten, kommerziellen Material handelt – vernachlässigt werden.

Beim Blick auf die Asymmetriefaktoren zeigt sich, dass die Austauscher auf zwitterionischer Basis deutliche Vorteile gegenüber dem kommerziellen Material zeigen. Während die Asymme-

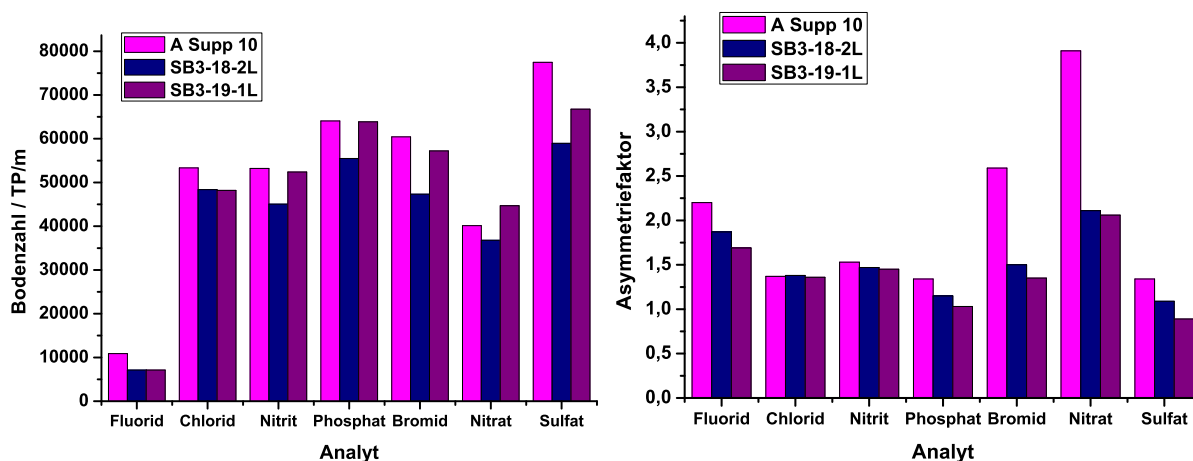


Abbildung 6.105: Graphische Gegenüberstellung der Bodenzahlen und Asymmetriefaktoren der Latex-Austauscher mit zwitterionischen Grundmaterialien (**SB3-18-2L** und **SB3-19-1L**) sowie der kommerziellen A Supp 10-Trennsäule.

triefaktoren für Bromid und Nitrat auf der Metrosep A Supp 10-Trennsäule bei 2,59 und 3,91 lagen, zeigt die Trennsäule **SB3-19-1L** Werte von 1,35 und 2,06. Der Asymmetriefaktor für Nitrat ist also immer noch höher, als die Werte für alle anderen Analyten. Er liegt allerdings deutlich näher beim Idealwert von 1. Das Ziel der Verbesserung der Peakformen durch den Einsatz zwitterionischer Grundmaterialien zur Herstellung agglomerierter Anionenaustauscher konnte also erreicht werden. Durch eine leichte Erhöhung der Elutionenstärke können zudem auch bei den pellikularen Austauschern auf zwitterionischer Basis die Retentionszeiten auf das angestrebte Maß der Retentionszeiten der kommerziellen Trennsäule reduziert werden.

Die Problematik der Fluoridelution nahe am Totvolumen kann jedoch auch durch Variation der Grundpartikel nicht behoben werden. Obwohl die hergestellten Austauscher höhere Retentionszeiten für Chlorid, Nitrit, Phosphat, Bromid, Nitrat und Sulfat zeigen, wird die Abtrennung des Fluoridsignals vom Totvolumen nicht verbessert. Aus diesem Grund kann auch keine Verbesserung der Bodenzahlen und Peakformen für Fluorid beobachtet werden. Um dieses Problem zu lösen, scheint eine Veränderung der funktionellen Gruppen an sich notwendig zu sein.

Abschließend muss noch geklärt werden, ob die Veränderung des Grundmaterials auch – wie erwartet – zu einer Verminderung oder sogar zu einer Eliminierung der Kationenretention geführt hat. Um dies zu untersuchen, werden auch mit agglomerierten Austauschern auf zwitterionischer Basis Messungen mit ICP-MS-Detektion durchgeführt. Die chromatographischen Bedingungen sind identisch zu denen aus Abbildung 6.98. Es wird ebenfalls eine Trennsäule der Dimension  $2\text{ mm} \times 100\text{ mm}$  eingesetzt, die Flussrate beträgt auch hier  $0,3\text{ ml/min}$ . Im Falle der Metrosep A Supp 10-Trennsäule wurden die Kationen Lithium und Natrium untersucht, da die Retentionszeit für zweiwertige Kationen so hoch war, dass diese selbst bei einem pH-Wert von 2,5 nicht von der Trennsäule eluiert werden konnten. In der nachfolgenden Abbildung 6.106 ist die Trennung

eines Gemisches von Bromid, Lithium und Barium auf der Trennsäule **SB3-15-3L** gezeigt.

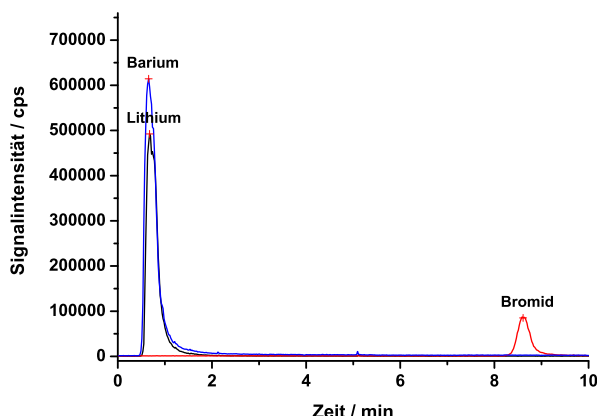


Abbildung 6.106: Trennung eines Gemisches aus Bromid, Litium und Barium. Trennsäule: **SB3-15-3L**,  $2 \times 100$  mm, Eluent: 10 mmol/l  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , pH 2,5, ICP-MS-Detektion, Flussrate: 0,3 ml/min, Säulentemperatur: 318 K, Probenschleife: 20  $\mu\text{l}$ , Analytkonzentration: je 10 mg/kg.

Auch hier ist klar zu erkennen, dass der Austauscher mit zwitterionischem Grundmaterial eine höhere Anionenkapazität und somit höhere Retentionszeiten für Anionen liefert, als es bei der Metrosep A Supp 10-Trennsäule der Fall war (vgl. Abbildung 6.98). Trotz der höheren Anionenretention eluieren die Kationen im Totvolumen. Selbst das zweiwertige Barium liefert dieselbe kurze Retentionszeit wie Lithium. Die erzeugten agglomerierten Anionenaustauscher auf zwitterionischer Basis zeigen also keine Kationenkapazität. Es handelt sich um den gesuchten Fall reiner Anionenaustauscher. Anders als bei der kommerziellen Trennsäule wird unter Einsatz zwitterionischer Grundkörper also ein echter Anionenaustauscher hergestellt und kein Kationenaustauscher, dessen Rest-Anionenaustauscherkapazität zur Anionentrennung herangezogen wird. Negative Effekte durch spät von der Trennsäule eluierende, nicht detektierbare Kationen können also bei diesen Austauschern ausgeschlossen werden.

Demnach ermöglicht der Einsatz zwitterionischer Grundkörper die Herstellung von Latex-Austauschern mit sehr guten Trenneffizienzen und ausgezeichneten Peaksymmetrien. Bis auf eine Verbesserung der Fluoridretention konnten also alle gestellten Anforderungen erfüllt werden.

## 7 Experimenteller Teil

### 7.1 Verwendete Chemikalien

In den nachfolgenden Tabellen sind die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Chemikalien und Reagenzien aufgelistet. Tabelle 7.1 enthält dabei alle für die Synthesereaktionen eingesetzten Substanzen inklusive der eingesetzten Lösungsmittel.

Tabelle 7.1: Zur Synthese der stationären Phasen eingesetzte Chemikalien und Reagenzien.

Bezeichnung	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Aceton	technisch	-	67-64-1
Acetonitril	technisch	-	75-05-8
Ammoniaklösung	p. a., 25%	Merck	1336-21-6
Ammoniumacetat	p. a., 98%	Grüssing	631-61-8
1,4-Butansulton	≥ 99%	Acros Organics	1633-83-6
4- <i>tert</i> -Butylbrenz- catechin	zur Synthese, > 98%	Merck	98-29-3
<i>n</i> -Butyllithiumlösung	2,5 M in Hexan	Acros Organics	109-72-8
Butyro-1,4-lacton	technisch	-	96-48-0
Chloroform	technisch	-	67-66-3
2-Chloro- <i>N,N</i> -di- methylethylamin- hydrochlorid	99%	Aldrich	4584-46-7
1,5-Dibrompentan	97%	Aldrich	111-24-0
Dichlormethan	technisch	-	75-09-2
1,2-Dichlorpropan	purum, ≥ 98,5%	Fluka	78-87-5
Diethylether	technisch	-	60-29-7
Dimethylamin-Lösung	purum, 40% in Wasser	Fluka	124-40-3
Essigsäure	p. a., 100%	Roth	64-19-07
Essigsäureethylester	technisch	-	141-78-6

Bezeichnung	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Ethanol	technisch	-	64-17-5
Hydroxymethan- sulfonsäure Natrium- salz	95%	Aldrich	870-72-4
Kaliumperoxodisulfat	p. a., $\geq 99,0\%$	Merck	7727-21-1
Lewatit S	stark sauer	Lanxess	-
Natriumdisulfit	p. a., $\geq 98\%$	Merck	7681-57-4
Natriumiodid	p. a., $\geq 99,5\%$	Merck	7681-82-5
Natriumsulfit	p. a., $\geq 96\%$	Riedel-de Haën	7757-83-7
Natronlauge	p. a., 50%	Fluka	1310-73-2
Pentan	technisch	-	109-66-0
1,3-Propansulton	98%	Aldrich	1120-71-4
Tetrahydrofuran	technisch	-	109-99-9
Toluol	technisch	-	108-88-3
Trimethylamin-Lösung	purum, 45% in Wasser	Fluka	75-50-3
4-Vinylbenzylchlorid	$\geq 90\%$	TCI Europe	1592-20-7

Sofern bei nachfolgenden organisch-chemischen Reaktionen Wasser als Lösungsmittel zum Einsatz kommt, handelt es sich um Reinstwasser ( $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ , Fa. Millipore, Bedford, MA, USA). Bei den verwendeten organischen Lösungsmitteln in technischer Qualität handelt es sich um Lösungsmittel, die über das Chemikalienlager der Philipps-Universität Marburg, Fachbereich Chemie, bezogen werden. Da diese Lösungsmittel aus Großbinden abgefüllt werden und eine unklare Reinheit aufweisen, wird grundsätzlich vor Gebrauch eine Aufreinigung durch Destillation durchgeführt. Eine Trocknung der Lösungsmittel erfolgt nur nach Bedarf und entsprechend gängiger Vorgehensweisen. Sofern getrocknete Lösungsmittel eingesetzt werden, ist dies in den nachfolgenden Synthesevorschriften explizit erwähnt.

Alle weiteren Edukte werden grundsätzlich in der höchstmöglichen Reinheit eingesetzt. Die Reaktionen zur Herstellung der zwitterionischen Monomere werden – sofern es sich um polymerisationsfähige Edukte und/oder Produkte handelt – unter Inertgasbedingungen – d. h. in einer Stickstoffatmosphäre – durchgeführt, um ungewollte Polymerisationen durch Sauerstoffradikale ausschließen zu können. Sofern Reaktionen unter Rühren durchgeführt werden, kommt ein Heizrührer (RCTbasic, Fa. IKA, Staufen) mit Magnetührstäbchen zum Einsatz.

In den nachfolgenden Tabellen 7.2 bis 7.5 sind alle Chemikalien und Reagenzien zusammengefasst, die für die analytischen Untersuchungen verwendet werden. Hierzu zählen das Ansetzen

von mobilen Phasen sowie die Herstellung diverser Stamm- und Messlösungen. Auch hier wird – sofern Wasser benötigt wird – grundsätzlich Reinstwasser eingesetzt.

Tabelle 7.2: Für die Herstellung von Eluenten eingesetzte Chemikalien und Reagenzien.

Bezeichnung	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Acetonitril	gradient grade, $\geq 99,9\%$	Sigma-Aldrich	75-05-8
Ammoniaklösung	p. a., 25%	Merck	1336-21-6
Ammoniumacetat	p. a., 98%	Grüssing	631-61-8
Essigsäure	p. a., 100%	Roth	64-19-7
Natriumacetat	$\geq 99\%$	J. T. Baker	127-09-3
Natriumcarbonat	p. a., $\geq 99,5\%$	Grüssing	497-19-8
Natriumhydrogen- carbonat	p. a., $\geq 99,7\%$	Riedel-de Haën	144-55-8
Natriumdihydrogen- phosphat-monohydrat	p. a., $\geq 99\%$	J. T. Baker	10049-21-5
<i>di</i> -Natriumhydrogen- phosphat-dodeca- hydrat	p. a., $\geq 99\%$	KMF	10039-32-4
Natriumperchlor- rat-monohydrat	p. a., $\geq 99\%$	Merck	7791-07-3
Natriumsulfat- decahydrat	p. a., $\geq 99,0\%$	Merck	7727-73-3
Natronlauge	p. a., 50%	Fluka	1310-73-2
Salpetersäure	p. a., 65%	Merck	7697-37-2
Salzsäure	p. a., 37%	KMF	7647-01-0
Schwefelsäure	p. a., 96%	KMF	7664-93-9

Tabelle 7.3: Für die Herstellung von Anionenstammlösungen eingesetzte Chemikalien und Reagenzien.

Bezeichnung	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Bariumbromid	p. a., 95%	ABCR	10553-31-8
Natriumbromid	p. a., $\geq 99,0\%$	Fluka	7647-15-6
Natriumchlorid	p. a., $\geq 99,8\%$	Riedel-de Haën	7647-14-5
Natriumfluorid	p. a., $\geq 99,5\%$	Merck	7681-49-4
Natriumiodid	p. a., $\geq 99,5\%$	Merck	7681-82-5
Natriumnitrat	reinst, 99%	Grüssing	7631-99-4
Natriumnitrit	p. a., $\geq 99\%$	Merck	7632-00-0
Natriumdihydrogen- phosphat-monohydrat	p. a., $\geq 99\%$	J. T. Baker	10049-21-5
Natriumsulfat- decahydrat	p. a., $\geq 99,0\%$	Merck	7727-73-3
Natriumthiocyanat	rein	Merck	540-72-7

Tabelle 7.4: Für die Herstellung von Stammlösungen für HILIC-Trennungen eingesetzte Chemikalien und Reagenzien.

Bezeichnung	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
Acetonitril	gradient grade, $\geq 99,9\%$	Sigma-Aldrich	75-05-8
<i>O</i> -Acetylsalicylsäure	purum, $\geq 99\%$	Fluka	50-78-2
<i>N</i> -(2-Carboxyethyl)- iminodiessigsäure	p. a., $\geq 98\%$	Fluka	6245-75-6
Ampicillin-trihydrat	BioChemika, $\geq 96\%$	Applichem	7177-48-2
DL-Äpfelsäure	puriss, 99,5%	Riedel-de Haën	6915-15-7
Bernsteinsäure	p. a., $\geq 99,5\%$	Fluka	110-15-6
Citronensäure	MicroSelect, $\geq 99,5\%$	Fluka	77-92-9
Colchicin	BioChemica	Applichem	64-86-8
Ethylendiamintetra- essigsäuredinatrium- salz-dihydrat	p. a., $\geq 99,0\%$	Fluka	6381-92-6
Essigsäure	p. a., 100%	Roth	64-19-7
Fumarsäure	puriss, $\geq 99,5\%$	Fluka	110-17-8
Glutarsäure	$\geq 99\%$	Sigma-Aldrich	110-94-1



Bezeichnung	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
<i>N</i> -(2-Hydroxyethyl)- ethylendiamin- <i>N,N,N'</i> -triessigsäure- trinatriumsalz	≥ 99,0%	Fluka	139-89-9
4-Hydroxybenzoe- säure	puriss, ≈ 99%	Fluka	99-96-7
DL-Isocitronensäure- trinatriumsalz	97%	Sigma-Aldrich	1637-73-6
$\alpha$ -Ketoglutarsäure	p. a., ≥ 99,0%	Fluka	328-50-7
Malonsäure	puriss, > 99%	Fluka	141-82-2
Natronlauge	p. a., 50%	Fluka	1310-73-2
Nitrilotriessigsäure	p. a., ≥ 99,0%	Sigma-Aldrich	139-13-9
Oxalsäure	p. a., ≥ 99%	Fluka	144-62-7
Paracetamol	Reag. Ph. Eur.	Merck	103-90-2
Phthalsäure	p. a., ≥ 99,5%	Fluka	88-99-3
Quercetin-dihydrat	≥ 99%	Riedel-de Haën	6151-25-3
Rutin-hydrat	≥ 95%	Sigma-Aldrich	207671-50-9
Salicylsäure	Reag. Ph. Eur.	Merck	69-72-7
L-(+)-Weinsäure	Ultra, ≥ 99,5%	Fluka	87-69-4

Tabelle 7.5: Für die Herstellung von Aminosäure- und Zuckerstammlösungen eingesetzte Chemikalien und Reagenzien.

Bezeichnung	Qualität	Hersteller	CAS-Nr.
DL-Alanin	p. a.	Serva	302-72-7
L-Arginin-hydrochlorid	p. a.	Serva	1119-34-2
L-Asparagin	p. a.	Serva	70-47-3
Dulcitol	$\geq 99\%$	Sigma-Aldrich	608-66-2
Fructose	$> 98\%$	Merck	57-48-7
Glucose	$> 98\%$	Fluka	50-99-7
Glycin	p. a.	Serva	56-40-6
L-Leucin	p. a.	Serva	61-90-5
L-Lysin-hydrochlorid	p. a.	Serva	7274-88-6
Maltose	$> 98\%$	Merck	6363-53-7
Natriumazid	reinst, $\geq 99\%$	Merck	26628-22-8
L-Prolin	p. a., $\geq 99,7\%$	Serva	147-85-3
Saccharose	$> 98\%$	Merck	57-50-1
DL-Serin	p. a.	Serva	302-84-1
Sorbitol	$> 98\%$	Fluka	50-70-4
L-Valin	p. a.	Serva	72-18-4

## 7.2 Synthese der zwitterionischen Monomere

Die Herstellung aller in dieser Arbeit synthetisierter und eingesetzter Austauschermaterialien erfolgt analog der in Kapitel 5 vorgestellten Pfropfpolymerisation. Dabei werden PS/DVB-Grundmaterialien durch radikalische Polymerisationen mit zwitterionischen Styrolderivaten funktionalisiert.

Um dies zu erreichen, müssen zunächst die gewünschten zwitterionischen Monomere als Reinstoffen hergestellt und isoliert werden. Die Strukturen der dargestellten zwitterionischen Monomere **SB1** bis **SB5** mit Sulfobetainstruktur sowie **SBi3** mit inverser Sulfobetainstruktur sind in den Abbildung 7.1 sowie 7.2 zusammengefasst.

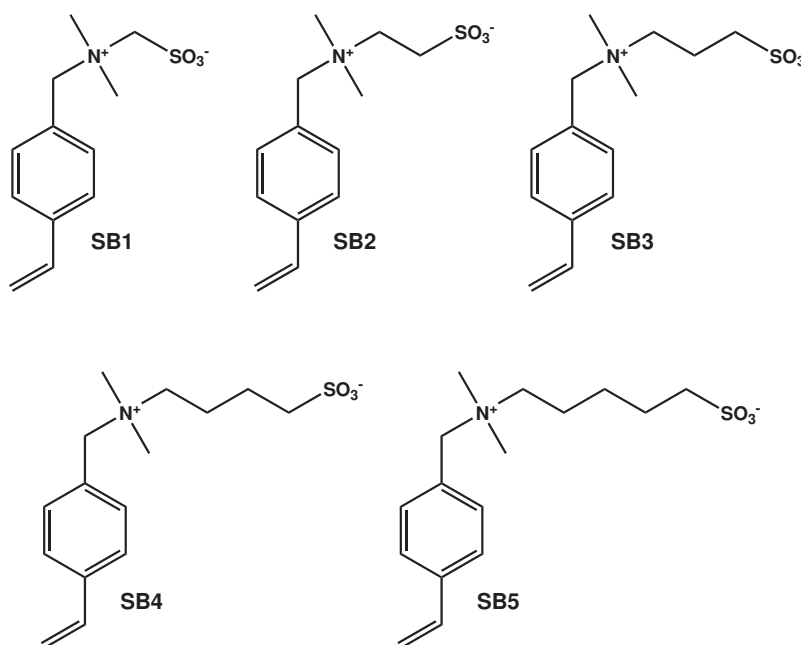


Abbildung 7.1: Übersicht über die synthetisierten Sulfobetainmonomere **SB1** bis **SB5**.

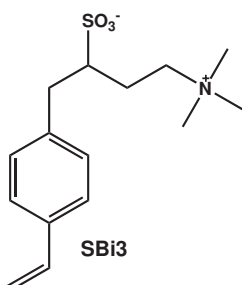


Abbildung 7.2: Struktur des synthetisierten Monomers mit inverser Sulfobetainstruktur (**SBi3**).

Für die Herstellung dieser Moleküle werden – mit Ausnahme des inversen Sulfobetainmonomers – ausschließlich nucleophile Substitutionsreaktionen eingesetzt, um ausgehend von 4-

Vinylbenzylchlorid die zwitterionischen Gruppen mit den gewünschten Abständen zwischen den Ladungen einzuführen.

## 7.2.1 Herstellung des Sulfobetainmonomers SB1

### Synthese von *N,N*-Dimethylaminomethansulfonat (SB1\_1)

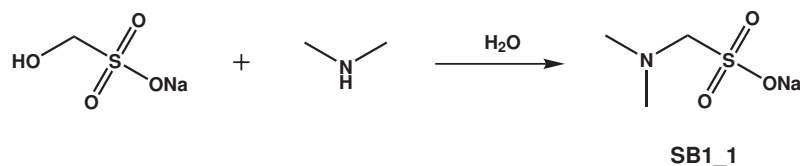


Abbildung 7.3: Syntheseroute für *N,N*-Dimethylaminomethansulfonat (SB1\_1).

*N,N*-Dimethylaminomethansulfonat (SB1\_1) wird nach der Vorschrift von *King* und *Skonieczny*<sup>[124]</sup> aus Hydroxymethansulfonsäure Natriumsalz und Dimethylamin hergestellt. 5,4 g Hydroxymethansulfonsäure Natriumsalz (0,040 mol, 134,09 g/mol, 1,0 eq) werden in 20 ml Wasser gelöst und im Eisbad gekühlt. Über einen Zeitraum von 30 min werden zu dieser Lösung über einen Tropftrichter 5,88 ml Dimethylamin (0,046 mol, 45,08 g/mol, 40% in Wasser, 5,18 g, 1,15 eq) zugegeben. Das Eisbad wird entfernt und es wird für 1 h bei Raumtemperatur gerührt. Wasser und überschüssiges Dimethylamin werden unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt wird am Hochvakuum getrocknet. Es kann aus Ethanol mit wenig Wasser umkristallisiert werden. Man erhält 6,11 g des reinen Produkts als farblosen Feststoff, was einer Ausbeute von 97% entspricht.

<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 300 MHz): 3,74 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 2,49 (s, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 75 MHz): 76,1 (CH<sub>2</sub>); 46,0 (2 × CH<sub>3</sub>).

### Synthese von 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniomethansulfonat (SB1)

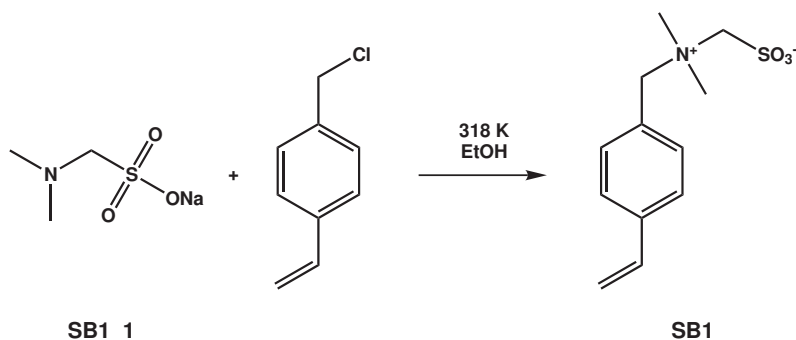


Abbildung 7.4: Syntheseroute für 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniomethansulfonat (SB1).

Das 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniomethansulfonat wird analog der von *Raskop*<sup>[37]</sup> gezeigten Reaktionen von 4-Vinylbenzylchlorid mit tertiären Aminen dargestellt. In einem unter Schutzgas befindlichen Zweihalskolben werden 2,82 ml 4-Vinylbenzylchlorid (0,020 mol, 152,62 g/mol, 3,05 g, 1,0 eq) in 20 ml Ethanol gelöst und im Eisbad gekühlt. Zu dieser Lösung wird über einen Zeitraum von 15 min eine Lösung von 3,22 g **SB1\_1** (0,020 mol, 161,16 g/mol, 1,0 eq) in 50 ml Ethanol/Wasser (1:1) zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird für 24 h auf 318 K erwärmt. Anschließend wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es werden 6,26 g **SB1** als farbloser Feststoff erhalten, was – unter der Annahme von Natrium und Chlorid als Gegenionen der Austauscherguppen – einem quantitativen Umsatz entspricht. Das Produkt wird unter Inertgasatmosphäre bei 248 K gelagert.

**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 300 MHz):** 7,57 (m, 4H, CH<sub>aromat</sub>); 6,81 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 11,0 Hz und 17,7 Hz, CH<sub>olefin</sub>); 5,93 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 17,7 Hz, CH<sub>trans</sub>); 5,40 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11,0 Hz, CH<sub>cis</sub>); 4,73 (s, 2H, CH<sub>2, benzyl</sub>); 4,41 (s, 2H, CH<sub>2</sub>); 3,26 (s, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>).

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 75 MHz):** 140,0 (C<sub>q</sub>); 135,7 (CH<sub>olefin</sub>); 133,5 (2 × CH<sub>aromat</sub>); 126,8 (2 × CH<sub>aromat</sub>); 125,9 (C<sub>q</sub>); 116,4 (CH<sub>2, olefin</sub>); 72,5 (CH<sub>2</sub>); 69,2 (CH<sub>2, benzyl</sub>); 51,0 (2 × CH<sub>3</sub>).

**Elementaranalyse:** Theorie C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>ClNNaO<sub>3</sub>S: 45,9% C; 5,5% H; 4,5% N. Gefunden: 44,8% C; 5,7% H; 4,0% N.

## 7.2.2 Herstellung des Sulfobetainmonomers SB2

### Synthese von *N,N*-Dimethyltaurin-hydrochlorid (**SB2\_1**)

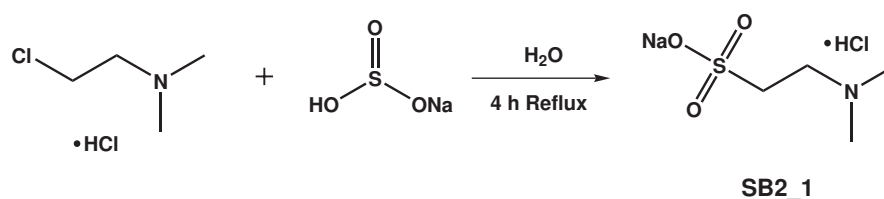


Abbildung 7.5: Syntheseroute für *N,N*-Dimethyltaurin (**SB2\_1**).

Die Herstellung von *N,N*-Dimethyltaurin-hydrochlorid gelingt nach der Vorschrift von *Palmi et al.*<sup>[159]</sup> durch Umsetzung von 2-Chloro-*N,N*-dimethylethylamin-hydrochlorid mit Natriummetabisulfit. In einem Rundkolben mit Intensivkühler wird eine Lösung von 13,31 g Natriumdisulfit (0,070 mol, 190,10 g/mol, 2,0 eq) in 80 ml Wasser und 10,08 g 2-Chloro-*N,N*-dimethylethylamin-hydrochlorid (0,070 mol, 144,04 g/mol, 1,0 eq) angesetzt. Das Reaktionsgemisch wird für 4 h zum Sieden erhitzt und anschließend auf Raumtemperatur abgekühlt. Es folgt eine Aufreinigung über einen stark sauren Kationenaustauscher in der H<sup>+</sup>-Form. Dazu werden dem Reaktionsgemisch 60 g Lewatit S zugegeben und das Lösungsmittel sowie gebildetes SO<sub>2</sub> werden unter vermindertem Druck entfernt. Danach wird das Harz über eine Glasfritte mit 150 ml Essigsäure

( $c = 2 \text{ mol/l}$ ) gewaschen. Das Eluat wird aufgefangen und die Essigsäure unter vermindertem Druck entfernt. Man erhält das Natriumsalz des reinen Produkts als farblosen Feststoff. Es können 10,52 g Produkt isoliert werden, was einer Ausbeute von 84% entspricht.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300 MHz): 3,63 (t, 2H,  $^3J = 7,2 \text{ Hz}$ ,  $\text{SCH}_2$ ); 3,44 (t, 2H,  $^3J = 7,2 \text{ Hz}$ ,  $\text{NCH}_2$ ); 3,03 (s, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ).

### Synthese von 4-Vinylbenzyl-dimethylammonioethansulfonat (SB2)

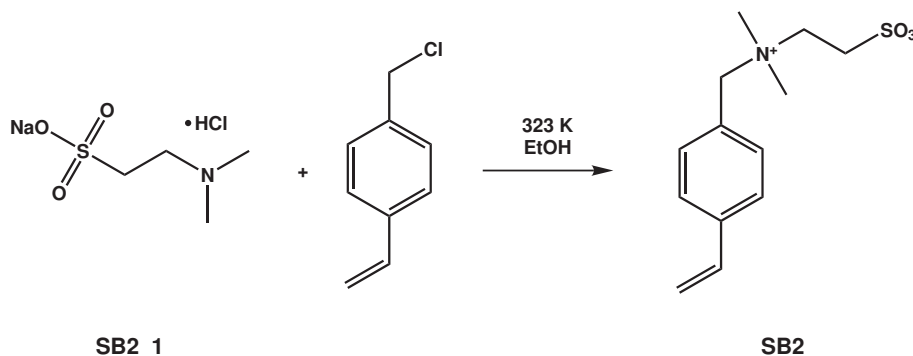


Abbildung 7.6: Syntheseroute für 4-Vinylbenzyl-dimethylammonioethansulfonat (SB2).

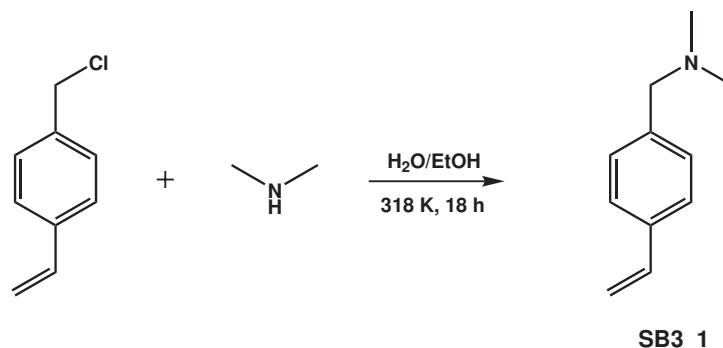
Die Herstellung des Sulfobetainmonomers SB2 gelingt ebenfalls analog der Synthesen von *Raskop*<sup>[37]</sup> durch Umsetzung des *N,N*-Dimethyltaurin-hydrochlorids mit 4-Vinylbenzylchlorid. In einem unter Schutzgas befindlichen Stickstoffkolben werden 10,69 ml 4-Vinylbenzylchlorid (0,076 mol, 152,62 g/mol, 11,58 g, 1,1 eq) in 30 ml Ethanol gelöst und im Eisbad gekühlt. Zu dieser Lösung wird eine Lösung von 12,0 g SB2\_1 (0,069 mol, 175,18 g/mol, 1,0 eq) in 180 ml Ethanol/Wasser (2:1) über einen Zeitraum von 15 min zugetropft. Anschließend werden 9 ml Ammoniaklösung (25%) zupipettiert. Das Reaktionsgemisch wird für 18 h auf 323 K erwärmt. Danach wird das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird mehrfach mit Acetonitril gewaschen, um den Überschuss an 4-Vinylbenzylchlorid zu entfernen. Es werden 18,3 g farbloser Feststoff erhalten, was einer Ausbeute von 80% entspricht. Das Produkt wird unter Inertgasatmosphäre bei 248 K gelagert.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300 MHz): 7,47 (m, 4H,  $\text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 6,68 (dd, 1H,  $^3J = 11,0 \text{ Hz}$  und  $17,7 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{olefin}}$ ); 5,81 (d, 1H,  $^3J = 17,7 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{trans}}$ ); 5,28 (d, 1H,  $^3J = 11,0 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{cis}}$ ); 4,48 (s, 2H,  $\text{CH}_2, \text{benzyl}$ ); 3,60 (m, 2H,  $\text{SCH}_2$ ); 3,38 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ); 3,01 (s, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ).

$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 75 MHz): 140,0 ( $\text{C}_q$ ); 135,8 ( $\text{CH}_{\text{olefin}}$ ); 133,5 ( $2 \times \text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 127,0 ( $2 \times \text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 126,2 ( $\text{C}_q$ ); 116,5 ( $\text{CH}_2, \text{olefin}$ ); 67,9 ( $\text{CH}_2, \text{benzyl}$ ); 59,9 ( $\text{SCH}_2$ ); 50,0 ( $2 \times \text{CH}_3$ ); 44,4 ( $\text{NCH}_2$ ).

**Elementaranalyse:** Theorie  $\text{C}_{13}\text{H}_{19}\text{ClNNaO}_3\text{S}$ : 47,6% C; 5,8% H; 4,3% N. Gefunden: 45,9% C; 6,3% H; 4,4% N.

## 7.2.3 Herstellung des Sulfobetainmonomers SB3

Synthese von 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (SB3\_1)Abbildung 7.7: Syntheseroute für 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (SB3\_1).

Die Synthese von 4-Vinylbenzyl-*N,N*-dimethylamin (SB3\_1) gelingt in Anlehnung an die polymeranaloge Reaktion nach Jiang und Irgum<sup>[108]</sup> durch Reaktion von 4-Vinylbenzylchlorid mit Dimethylamin. In einem eisgekühlten, unter Schutzgasatmosphäre stehenden Zweihalskolben werden 14,10 ml 4-Vinylbenzylchlorid (0,100 mol, 152,62 g/mol, 15,26 g, 1,0 eq) in 50 ml Ethanol vorgelegt. Zu dieser Lösung werden 30,40 ml Dimethylaminlösung (40% in Wasser, 0,240 mol, 45,08 g/mol, 27,04 g, 2,4 eq) über einen Zeitraum von 30 min über einen Tropftrichter zugegeben. Nach erfolgter Zugabe wird das Reaktionsgemisch für 18 h auf 318 K erwärmt. Die Lösungsmittel sowie das überschüssige Dimethylamin werden unter vermindertem Druck entfernt. Der Rückstand wird in 50 ml Chloroform gelöst und zweimal mit je 50 ml Wasser gewaschen. Das Lösungsmittel der organischen Phase wird erneut unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Produkt wird über einen Faltenfilter filtriert. Es werden 10,0 g eines gelben, dünnflüssigen Öls erhalten, was einer Ausbeute von 62% entspricht (bezogen auf die eingesetzte Menge an 4-Vinylbenzylchlorid). Das Produkt wird unter Inertgasatmosphäre bei maximal 286 K gelagert.

<sup>1</sup>H-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 300 MHz): 7,31 (m, 4H, CH<sub>aromat</sub>); 6,70 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 10,9 Hz und 17,6 Hz, CH<sub>olefin</sub>); 5,73 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 17,6 Hz, CH<sub>trans</sub>); 5,21 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 10,9 Hz, CH<sub>cis</sub>); 3,40 (s, 2H, CH<sub>2, benzyl</sub>); 2,23 (s, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>).

<sup>13</sup>C-NMR (CDCl<sub>3</sub>, 75 MHz): 138,6 (C<sub>q</sub>); 136,7 (CH<sub>olefin</sub>); 136,4 (C<sub>q</sub>); 129,2 (2 × CH<sub>aromat</sub>); 126,1 (2 × CH<sub>aromat</sub>); 113,4 (CH<sub>2, olefin</sub>); 64,1 (CH<sub>2, benzyl</sub>); 45,3 (2 × CH<sub>3</sub>).

### Synthese von 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniopropansulfonat (SB3)

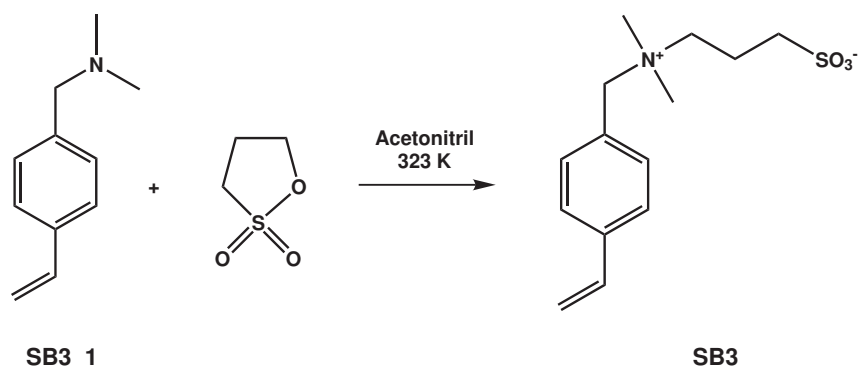


Abbildung 7.8: Syntheseroute für 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniopropansulfonat (**SB3**).

Die Synthese von 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniopropansulfonat (**SB3**) gelingt ebenfalls in Anlehnung an die polymeranaloge Reaktion nach Jiang und Irgum<sup>[108]</sup> durch Umsetzung des Produktes 4-Vinylbenzyl-N,N-dimethylamin (**SB3\_1**) mit 1,3-Propansulton. In einem Zweihalskolben unter Inertgasatmosphäre werden 3,22 g **SB3\_1** (0,020 mol, 161,24 g/mol, 1,0 eq) eingewogen und mit 3,40 ml 1,3-Propansulton (0,020 mol, 122,14 g/mol, 2,44 g, 1,0 eq) sowie 100 ml Acetonitril versetzt. Zudem werden wenige Schuppen 4-*tert*-Butylbrenzcatechin zugegeben, um eine mögliche Polymerisation zu verhindern. Das Reaktionsgemisch wird für 48 h auf 323 K erwärmt. Das Produkt fällt dabei aus der Reaktionslösung als farbloser Niederschlag aus. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt mehrmals mit Acetonitril gewaschen. Es werden 5,4 g **SB3** als farbloser Feststoff erhalten, was einer Ausbeute von 84% entspricht. Das Produkt wird unter Inertgasatmosphäre bei 248 K gelagert.

**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 300 MHz):** 7,55 (m, 4H, CH<sub>aromat</sub>); 6,82 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 11,0 Hz und 17,7 Hz, CH<sub>olefin</sub>); 5,93 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 17,7 Hz, CH<sub>trans</sub>); 5,40 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11,0 Hz, CH<sub>cis</sub>); 4,48 (s, 2H, CH<sub>2, benzyl</sub>); 3,43 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>); 3,03 (s, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>); 2,96 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7,4 Hz, SCH<sub>2</sub>); 2,30 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-).

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 75 MHz):** 139,8 (C<sub>q</sub>); 135,7 (CH<sub>olefin</sub>); 133,2 (2 × CH<sub>aromat</sub>); 126,5 (2 × CH<sub>aromat</sub>); 126,3 (C<sub>q</sub>); 116,3 (CH<sub>2, olefin</sub>); 67,8 (CH<sub>2, benzyl</sub>); 62,3 (NCH<sub>2</sub>); 49,5 (2 × CH<sub>3</sub>); 47,3 (SCH<sub>2</sub>); 18,3 (CH<sub>2</sub>).

**Elementaranalyse:** Theorie C<sub>14</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>S: 59,3% C; 7,5% H; 4,9% N. Gefunden: 58,5% C; 7,4% H; 4,8% N.



### 7.2.4 Herstellung des Sulfobetainmonomers SB4

#### Synthese von 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniobutansulfonat (SB4)

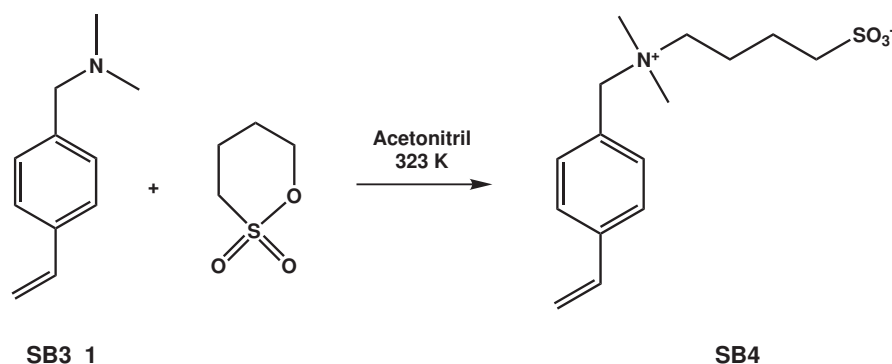


Abbildung 7.9: Syntheseroute für 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniobutansulfonat (**SB4**).

Die Herstellung des 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniobutansulfonat (**SB4**) gelingt analog der Herstellung des Monomers **SB3**, es wird lediglich das 1,3-Propansulton durch 1,4-Butansulton ersetzt. In einem Zweihalskolben unter Inertgasatmosphäre werden 3,22 g **SB3\_1** (0,020 mol, 161,24 g/mol, 1,0 eq) eingewogen und mit 3,64 ml 1,4-Butansulton (0,020 mol, 136,17 g/mol, 2,72 g, 1,0 eq) sowie 100 ml Acetonitril versetzt. Zudem werden wenige Schuppen 4-*tert*-Butylbrenzcatechin zugegeben, um eine mögliche Polymerisation zu verhindern. Das Reaktionsgemisch wird für 48 h auf 323 K erwärmt. Das Produkt fällt dabei aus der Reaktionslösung als farbloser Niederschlag aus. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das Produkt mehrmals mit Acetonitril gewaschen. Es werden 5,1 g **SB4** als farbloser Feststoff erhalten, was einer Ausbeute von 85% entspricht. Das Produkt wird unter Inertgasatmosphäre bei 248 K gelagert.

**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 300 MHz):** 7,54 (m, 4H, CH<sub>aromat</sub>); 6,81 (dd, 1H, <sup>3</sup>J = 11,0 Hz und 17,7 Hz, CH<sub>olefin</sub>); 5,92 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 17,7 Hz, CH<sub>trans</sub>); 5,39 (d, 1H, <sup>3</sup>J = 11,0 Hz, CH<sub>cis</sub>); 4,44 (s, 2H, CH<sub>2, benzyl</sub>); 3,29 (m, 2H, NCH<sub>2</sub>); 3,00 (s, 6H, 2 × CH<sub>3</sub>); 2,96 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7,6 Hz, SCH<sub>2</sub>); 2,02 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-); 1,78 (m, 2H, -CH<sub>2</sub>-).

**<sup>13</sup>C-NMR (D<sub>2</sub>O, 75 MHz):** 139,8 (C<sub>q</sub>); 135,7 (CH<sub>olefin</sub>); 133,2 (2 × CH<sub>aromat</sub>); 126,7 (2 × CH<sub>aromat</sub>); 126,5 (C<sub>q</sub>); 116,3 (CH<sub>2, olefin</sub>); 67,6 (CH<sub>2, benzyl</sub>); 63,4 (NCH<sub>2</sub>); 50,0 (2 × CH<sub>3</sub>); 49,6 (SCH<sub>2</sub>); 21,1 (CH<sub>2</sub>); 21,0 (CH<sub>2</sub>).

**Elementaranalyse:** Theorie C<sub>15</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>3</sub>S: 60,6% C; 7,8% H; 4,7% N. Gefunden: 58,5% C; 7,9% H; 4,3% N.

## 7.2.5 Herstellung des Sulfobetainmonomers SB5

### Synthese von 5-Brompentan-1-sulfonat (SB5\_1)

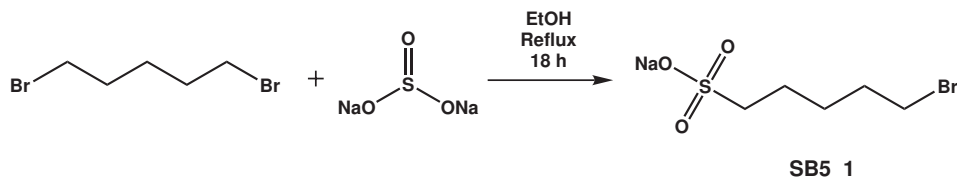


Abbildung 7.10: Syntheseroute für 5-Brompentan-1-sulfonat (**SB5\_1**).

Die Herstellung des 5-Brompentan-1-sulfonats (**SB5\_1**) gelingt nach der Vorschrift von *Fujii* und *Cook*<sup>[126]</sup> durch Umsetzung von 1,5-Dibrompentan mit  $\text{Na}_2\text{SO}_3$ . In einem Zweihalskolben mit Intensivkühler werden 20,4 ml 1,5-Dibrompentan (0,150 mol, 229,95 g/mol, 34,50 g, 3,0 eq) in einem Gemisch aus 100 ml Ethanol und 30 ml Wasser vorgelegt und zum Sieden erhitzt. Zu dieser Lösung werden über einen Tropftrichter 6,30 g Natriumsulfit (0,050 mol, 126,04 g/mol, 1,0 eq) in 30 ml Wasser über einen Zeitraum von 2 h zugetropft. Das Reaktionsgemisch wird für den gesamten Reaktionsverlauf unter Ausschluss von Licht gehalten. Nach erfolgtem Zutropfen wird das Gemisch für weitere 18 h zum Sieden erhitzt. Danach werden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt und der Rückstand wird einer *Soxhlet*-Extraktion mit 200 ml Ethanol unterzogen. Das Lösungsmittel wird erneut unter vermindertem Druck entfernt und man erhält 8,25 g leicht orangefarbenen Feststoff, was einer Ausbeute von 65% entspricht.

<sup>1</sup>H-NMR ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300 MHz): 3,54 (t, 2H,  $^3J = 6,7$  Hz,  $\text{SCH}_2$ ); 2,94 (t, 2H,  $^3J = 7,7$  Hz,  $\text{BrCH}_2$ ); 1,91 (dt, 2H,  $^3J = 6,7$  Hz und 6,7 Hz,  $\text{SCH}_2\text{-CH}_2$ ); 1,78 (m, 2H,  $\text{BrCH}_2\text{-CH}_2$ ); 1,58 (m, 2H,  $\text{-CH}_2\text{-}$ ).

### Synthese von 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniopentansulfonat (SB5)

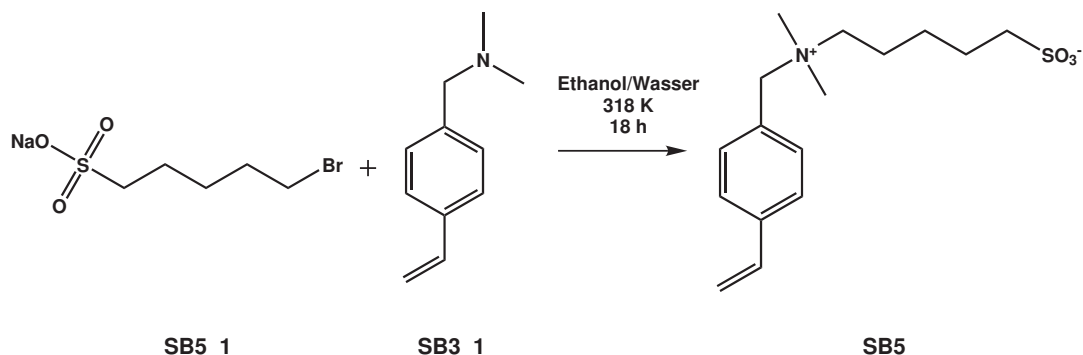


Abbildung 7.11: Syntheseroute für 4-Vinylbenzyl-dimethylammoniopentansulfonat (**SB5**).

Die Herstellung gelingt wiederum in Anlehnung an die Vorschriften von *Raskop*<sup>[37]</sup> durch Umsetzung des tertiären Amins **SB3\_1** mit 5-Brompentan-1-sulfonat (**SB5\_1**). In einem unter In-

tergasatmosphäre befindlichen Zweihalskolben werden 6,00 g **SB5\_1** (0,024 mol, 253,09 g/mol, 1,0 eq) in 60 ml Ethanol/Wasser (1:1) gelöst und im Eisbad gekühlt. Zu dieser Lösung werden in einer Portion 3,87 g **SB3\_1** (0,024 mol, 161,24 g/mol, 1,0 eq) zugegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 18 h auf 318 K erwärmt. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt und das erhaltene Produkt mehrmals mit wenig Acetonitril gewaschen. Es werden 7,19 g 4-Vinylbenzyl-dimethylpentansulfonat (**SB5**) in Form eines farblosen Feststoffs erhalten, was einer Ausbeute von 81% entspricht. Das Produkt wird unter Inertgasatmosphäre bei 248 K gelagert.

**$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 300 MHz):** 7,76 (m, 4H,  $\text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 6,95 (dd, 1H,  $^3\text{J} = 11,0 \text{ Hz}$ ,  $^3\text{J} = 17,7 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{olefin}}$ ); 6,09 (d, 1H,  $^3\text{J} = 17,7 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{trans}}$ ); 5,56 (d, 1H,  $^3\text{J} = 11,0 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{cis}}$ ); 4,72 (s, 2H,  $\text{CH}_2, \text{benzyl}$ ); 3,53 (m, 2H,  $\text{NCH}_2$ ); 3,26 (s, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ); 3,03 (m, 2H,  $\text{SCH}_2$ ); 2,14 (m, 2H,  $\text{NCH}_2\text{CH}_2$ ); 1,97 (m, 2H,  $\text{SCH}_2\text{CH}_2$ ); 1,70 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ ).

**$^{13}\text{C-NMR}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ , 75 MHz):** 139,8 ( $\text{C}_q$ ); 135,7 ( $\text{CH}_{\text{olefin}}$ ); 133,2 ( $2 \times \text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 126,7 ( $2 \times \text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 126,5 ( $\text{C}_q$ ); 116,3 ( $\text{CH}_2, \text{olefin}$ ); 67,6 ( $\text{CH}_2, \text{benzyl}$ ); 63,4 ( $\text{NCH}_2$ ); 50,0 ( $2 \times \text{CH}_3$ ); 49,6 ( $\text{SCH}_2$ ); 21,1 ( $\text{CH}_2$ ); 21,0 ( $\text{CH}_2$ ).

**Elementaranalyse:** Theorie  $\text{C}_{16}\text{H}_{25}\text{BrNNaO}_3\text{S}$ : 46,4% C; 6,1% H; 3,4% N. Gefunden: 47,6% C; 5,8% H; 3,1% N.

### 7.2.6 Herstellung des inversen Sulfobetainmonomers **SBi3**

#### Synthese von 4-Vinylbenzyljodid (**SBi3\_1**)

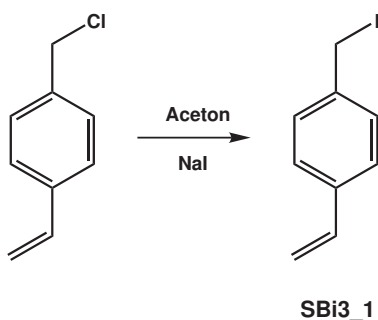


Abbildung 7.12: Syntheseroute für 4-Vinylbenzyljodid (**SBi3\_1**).

Die Herstellung von 4-Vinylbenzyljodid erfolgt nach der Vorschrift von *Theis*<sup>[120]</sup> über eine *Finckelstein*-Reaktion von 4-Vinylbenzylchlorid. In einem Dreihalskolben werden unter Inertgasatmosphäre 20 ml 4-Vinylbenzylchlorid (0,142 mol, 152,62 g/mol, 21,66 g, 1,0 eq) in 200 ml Aceton vorgelegt. Zu dieser Lösung werden 23,38 g Natriumiodid (0,156 mol, 149,89 g/mol, 1,1 eq) in fester Form gegeben. Die Suspension wird für 16 h unter Ausschluss von Licht bei Raumtemperatur gerührt. Durch Zugabe von 160 ml Wasser wird die Reaktion beendet. Das Reaktionsge-

misch wird zweimal mit je 200 ml Pentan extrahiert und die gesammelten organischen Phasen werden über Magnesiumsulfat getrocknet. Das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Anschließend wird der bräunliche Rückstand nochmals in 200 ml Pentan gelöst und mit 100 ml gesättigter Natriumthiosulfatlösung gewaschen. Es wird nochmals über Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es werden 32,58 g einer gelben Flüssigkeit erhalten, was einer Ausbeute von 94% entspricht. Das Produkt wird bei 248 K gelagert und liegt unter diesen Bedingungen als kristalliner Feststoff vor.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz): 7,34 (s, 4H,  $\text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 6,69 (dd, 1H,  $^3J = 10,9 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 17,6 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{olefin}}$ ); 5,76 (d, 1H,  $^3J = 17,6 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{trans}}$ ); 5,27 (d, 1H,  $^3J = 10,9 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{cis}}$ ); 4,47 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ , benzyl).

### Synthese von 1-(Vinylbenzy)-1,3-propansulton (SBi3\_2)

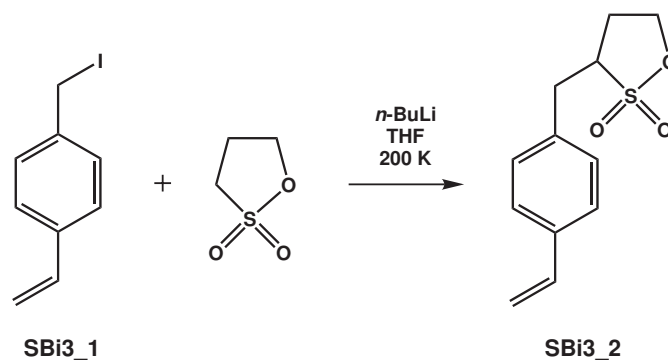


Abbildung 7.13: Syntheseroute für 1-(Vinylbenzy)-1,3-propansulton (**SBi3\_2**).

Die Herstellung des 1-(Vinylbenzy)-1,3-propansulton (**SBi3\_2**) gelingt analog der Vorschrift von *Preston et al.*<sup>[160]</sup> durch Umsetzung von 4-Vinylbenzylidiod **SBi3\_1** mit 1,3-Butansulton unter Anwesenheit von *n*-Butyllithium. Unter Inertgasatmosphäre in einem Dreihalskolben wird zu einer Lösung von 2,44 g 1,3-Propansulton (0,020 mol, 122,14 g/mol, 1,0 eq) in 130 ml trockenem Tetrahydrofuran bei 200 K tropfenweise über einen Zeitraum von 30 min eine Lösung von 11 ml *n*-Butyllithium (0,026 mol, 2,5 mol/l in Hexan, 1,3 eq) zugegeben. Nach weiteren 30 min Rührens wird zu der immer noch gekühlten Lösung tropfenweise eine Lösung von 5,37 g 4-Vinylbenzylidiod **SBi3\_1** (0,022 mol, 244,07 g/mol, 1,1 eq) in 20 ml trockenem Tetrahydrofuran über einen Zeitraum von 30 min zugegeben. Die Lösung wird für 2 h bei 200 K gerührt und anschließend auf 278 K erwärmt. Nun werden 50 ml Wasser zur Hydrolyse zugegeben und die organische Phase wird mit 50 ml gesättigter Ammoniumchloridlösung gewaschen. Das noch verbleibende Edukt wird mit Pentan aus der THF-Phase ausgeschüttelt. Diese wird mit Magnesiumsulfat getrocknet und das Lösungsmittel wird unter vermindertem Druck entfernt. Es werden 3,68 g eines farblosen Feststoffs erhalten, was einer Ausbeute von 65% entspricht.

$^1\text{H-NMR}$  ( $\text{CDCl}_3$ , 300 MHz): 7,29 (m, 4H,  $\text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 6,70 (dd, 1H,  $^3J = 10,9 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 17,6 \text{ Hz}$ ,

$\text{CH}_{\text{olefin}}$ ); 5,74 (d, 1H,  $^3J = 17,6 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{trans}}$ ); 5,26 (d, 1H,  $^3J = 10,9 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{cis}}$ ); 4,38 (m, 2H,  $\text{OCH}_2$ ); 3,42 (m, 2H,  $\text{CH}_2$ , *benzyl*); 2,87 (m, 1H, SCH); 2,41 (m, 2H,  $\text{OCH}_2\text{CH}_2$ ).

### Synthese von 4-(Trimethylammonio)-1-(4-vinylphenyl)-butan-2-sulfonat (SBi3)

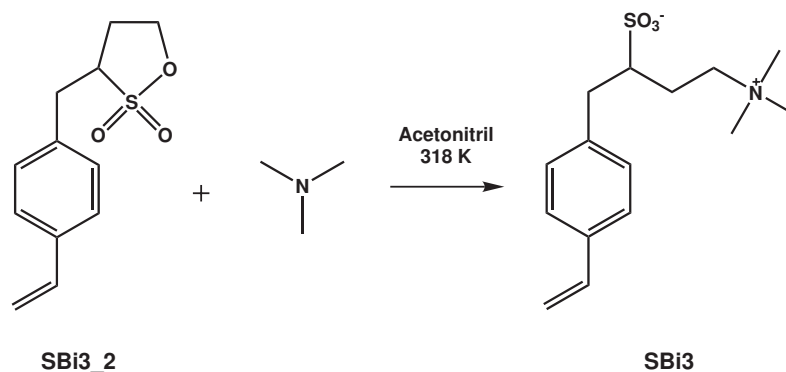


Abbildung 7.14: Syntheseroute für 4-(Trimethylammonio)-1-(4-vinylphenyl)-butan-2-sulfonat (SBi3).

Die Herstellung gelingt in Anlehnung an die Vorschrift von *Galín et al.*<sup>[161]</sup> durch Umsetzung des Sultons SBi3\_2 mit Triethanolamin. In einem Stickstoffkolben unter Inertgasatmosphäre werden zu einer eisgekühlten Lösung von 2,0 g SBi3\_2 (0,007 mol, 283,30 g/mol, 1,0 eq) in 100 ml Acetonitril 2,22 ml Trimethylamin (0,0014 mol, 59,11 g/mol, 45% in Wasser, 1,84 g, 2,0 eq) gegeben. Das Reaktionsgemisch wird für 18 h auf 318 K erwärmt. Die Lösungsmittel sowie überschüssiges Trimethylamin werden unter vermindertem Druck entfernt. Das Produkt wird mehrmals mit Acetonitril gewaschen. Es werden 1,7 g farbloser Feststoff erhalten, was einer Ausbeute von 58% entspricht. Das Produkt wird unter Inertgasatmosphäre bei 248 K gelagert.

**<sup>1</sup>H-NMR (D<sub>2</sub>O, 300 MHz):** 7,66 (m, 4H,  $\text{CH}_{\text{aromat}}$ ); 6,83 (dd, 1H,  $^3J = 11,0 \text{ Hz}$ ,  $^3J = 17,7 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{olefin}}$ ); 5,97 (d, 1H,  $^3J = 17,7 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{trans}}$ ); 5,45 (d, 1H,  $^3J = 11,0 \text{ Hz}$ ,  $\text{CH}_{\text{cis}}$ ); 4,32 (s, 2H,  $\text{CH}_2$ , *benzyl*); 3,42 (t, 2H,  $^3J = 8,1 \text{ Hz}$ ,  $\text{SCH}_2$ ); 3,23 (s, 6H,  $2 \times \text{CH}_3$ ); 2,96 (t, 2H,  $^3J = 7,5 \text{ Hz}$ ,  $\text{NCH}_2$ ); 2,30 (m, 2H,  $-\text{CH}_2-$ ).

## 7.3 Homopolymerisationsexperimente

Bevor nun mittels Pfropfpolymerisation zwitterionische Austauschermaterialien erzeugt werden, ist es zunächst sinnvoll, die zwitterionischen Monomere genauer zu charakterisieren. Ein entscheidendes Kriterium ist das Polymerisationsverhalten der Ionomere. Dieses kann im Rahmen von Homopolymerisationsexperimenten untersucht werden.

Dabei wird eine Reaktion analog der Pfropfpolymerisation durchgeführt. Im Gegensatz dazu wird bei dieser Homopolymerisation jedoch kein PS/DVB-Trägermaterial zugegeben. Die

Durchführung erfolgt analog der in Kapitel 7.4.1.2 gezeigten Vorschrift für die Pfropfpolymerisation. Die Syntheseparameter sind in Tabelle 7.6 zusammengefasst.

Tabelle 7.6: Bedingungen der Homopolymerisationen zwitterionischer Ionomere.

Eigenschaft	
Lösungsmittel	16,7 ml Wasser/Aceton (80:20)
Ionomermenge	0,415 mmol
Radikalstartermenge	1,1 eq
Temperatur	323 K, 333 K und 343 K
Reaktionszeit	4 h
Radikalstarter	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>
Radikalstarterzugabe	15 min nach Ionomerzugabe
Zeiten der Probennahme	0 min, 1 min, 2 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, 150 min, 180 min und 240 min

In einem doppelwandigen, flüssigkeitstemperierten Reaktionsgefäß mit 150 ml Innenvolumen werden unter Inertgasatmosphäre zunächst 13,35 ml Reinstwasser zusammen mit 3,35 ml Aceton (Lösungsmittelverhältnis von 80:20) temperiert. Zur Abschätzung der Aktivierungsenergien ist es dabei notwendig, die Homopolymerisationsexperimente mit jedem Monomer bei verschiedenen Temperaturen durchzuführen, nämlich bei 323 K, 333 K und 343 K. Das Lösungsmittelgemisch wird in einer Portion zugegeben und anschließend für 20 min bei einer Rührgeschwindigkeit von 5000 Umdrehungen/min temperiert. Nach dieser Zeit werden 0,415 mmol des jeweiligen Ionomers in fester Form zugegeben und es wird für weitere 15 min bei gleichbleibender Rührgeschwindigkeit temperiert. Nun wird eine Probe mit einem Volumen von 100 µl entnommen und in ein bereitstehendes und auf 273 K vorgekühltes Schnappdeckelgläschen mit 9,90 ml Reinstwasser pipettiert. Die sofortige Abkühlung auf 273 K beendet bei späteren Probennahmen mit sofortiger Wirkung die Polymerisation.

Direkt nach der Entnahme dieser Probe werden 0,457 mmol Kaliumperoxodisulfat (1,1 eq) in fester Form zugegeben und es wird bei 4000 Umdrehungen/min gerührt. Die Zeit ab der Radikalstarterzugabe wird gemessen und es werden nach 1 min, 2 min, 3 min, 5 min, 10 min, 15 min, 20 min, 30 min, 60 min, 90 min, 120 min, 150 min, 180 min sowie nach 240 min jeweils wieder Proben mit Volumina von 100 µl entnommen und analog der ersten Probe in bereitstehende, gekühlte Gefäße mit 9,9 ml Reinstwasser pipettiert.

Der Verlauf der Homopolymerisationen wird untersucht, indem die genommenen Proben via RP-HPLC untersucht werden. Für die chromatographischen Messungen wird eine Trennsäule

mit Nucleosil C18-Material (150 mm × 4 mm, 7 µm Partikelgröße, Macherey-Nagel, Düren) verwendet. Als Eluent kommt ein Gemisch aus Reinstwasser, Methanol und Phosphatpuffer (25 mmol/l, pH 3,0) in den Verhältnissen 50/30/20 zum Einsatz, die Detektion erfolgt mithilfe eines UV-Detektors bei 254 nm. Die Flussrate beträgt 1 ml/min, die Säulentemperatur 308 K.

Im Rahmen der Auswertung werden anschließend die Monomeranteile normiert auf den Anfangsgehalt an Monomer (Probe bei 0 min bzw. vor Radikalstarterzugabe) aufgetragen, später können aus den Messwerten auch die Geschwindigkeitskonstanten der Homopolymerisationen sowie die Aktivierungsenergien der Reaktionen bestimmt werden.

## 7.4 Herstellung neuer zwitterionischer stationärer Phasen

Mit den in den vorangegangenen Abschnitten gezeigten zwitterionischen Monomeren können nun PS/DVB-Grundkörper funktionalisiert werden. Die eingesetzten hochporösen Trägermaterialien besitzen einen Quervernetzungsgrad von 55% und einen mittleren Partikeldurchmesser von 4,6 µm. Die Anbindung der Ionomere verläuft über eine Oberflächenfunktionalisierung des Trägermaterials durch radikalische Addition.

### 7.4.1 Oberflächenfunktionalisierung von PS-DVB-Grundmaterialien

Die PS/DVB-Grundmaterialien werden bei der Firma Metrohm AG (Herisau, Schweiz) in drei Schritten über das *Ugelstadt*-Verfahren<sup>[162]</sup> hergestellt und für die Verwendung in dieser Arbeit als Rohmaterialien zur Verfügung gestellt.

#### 7.4.1.1 Vorbereitung des Trägermaterials

Da die im Rahmen dieser Arbeit hergestellten Polymerpartikel direkt aus dem Syntheseprozess stammen, müssen sie vor der Verwendung als Grundmaterial für zwitterionische Austauscher zunächst einer Porenextraktion unterzogen werden. Eingesetzt wird das Material mit der Chargenbezeichnung P070821A7sk.

94 g des rohen PS/DVB werden in 1000 ml Toluol suspendiert und für 24 h unter Rühren zum Sieden erhitzt. Anschließend wird das Material über einen Büchnertrichter mit Schwarzbandfilter filtriert. Der Feststoff wird erneut in 1000 ml Toluol suspendiert und für weitere 24 h unter Rühren zum Sieden erhitzt. Nach wiederholter Filtration wird das Polymer in 1000 ml 1,2-

Dichlorpropan suspendiert und für 24 h zum Sieden erhitzt. Nach der letztmaligen Filtration über einen Schwarzbandfilter wird das PS/DVB bei 338 K bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Nach erfolgter Trocknung wird das Polymer portionsweise mit insgesamt etwa 2000 ml Ethanol suspendiert und zunächst durch ein Sieb mit einem Porendurchmesser von 75  $\mu\text{m}$  gesiebt. Der evtl. vorhandene grobkörniger Rückstand, der das Sieb nicht passiert hat, wird verworfen. Anschließend erfolgt ein zweiter Siebschritt durch ein Sieb mit einem Porendurchmesser von 21  $\mu\text{m}$ . Auch hier wird der grobkörnige, nicht filtrierbare Rückstand verworfen. Das restliche Material wird über einen Schwarzbandfilter filtriert und erneut bei 338 K bis zur Gewichtskonstanz getrocknet.

Das so vorbereitete Material kann bis zur Verwendung für die Pfropfpolymerisation in verschlossenen Polyethylen-Gefäßen gelagert werden.

#### 7.4.1.2 Durchführung der Pfropfpolymerisationen

Die Pfropfpolymerisationen werden nach der von *Raskop*<sup>[37]</sup> entwickelten Vorschrift (EVOIII) durchgeführt. Im Gegensatz zu dieser Synthese wird jedoch Aceton als organischer Lösungsmittelzusatz anstelle von Ethanol eingesetzt. Die verwendeten Mengen und Bedingungen sind in Tabelle 7.7 sowohl für 1 g-Ansätze als auch für 3 g-Ansätze zusammengefasst.

Tabelle 7.7: Bedingungen in der EVO-Synthese zwitterionischer Phasen.

Eigenschaft	1 g EVO-Ansätze	3 g EVO-Ansätze
Lösungsmittel	33 ml Wasser/Aceton (80:20)	100 ml Wasser/Aceton (80:20)
Polymereinwaage	1,0 g (2 mm Säulen)	3,0 g (4 mm Säulen)
Ionomermenge	0,41 bis 4,98 mmol	2,47 bis 16,38 mmol
Radikalstartermenge	1,1 eq	1,1 eq
Temperatur	348 K	338 oder 348 K
Reaktionszeit	4 h	4 h
Radikalstarter	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>	K <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub>
Radikalstarterzugabe	15 min nach Ionomerzugabe	15 min nach Ionomerzugabe

Mit weiterem Fortschritt dieser Arbeit werden fast ausschließlich noch 3 g-Ansätze bei 338 K durchgeführt, und damit Trennsäulen mit 4 mm Innendurchmesser gepackt. Aus diesem Grund wird lediglich die Synthesevorschrift für diese Bedingungen ausformuliert.

In einem doppelwandigen, flüssigkeitstemperierten Reaktionsgefäß mit 150 ml Innenvolumen werden bei 338 K unter Inertgasatmosphäre 80 ml Wasser vorgelegt. Dazu wird eine Suspension



von 3,0 g PS/DVB in 20 ml Aceton gegeben und das Gemisch wird für 20 min bei 5000 Umdrehungen/min gerührt. Anschließend wird über einen Feststofftrichter die benötigte Menge an zwitterionischem Monomer (1,0 eq) in fester Form zugegeben und für weitere 15 min gerührt. Nach dieser Zeit werden 1,1 eq Radikalstarter in fester Form zugegeben und die Rührgeschwindigkeit wird auf 4000 Umdrehungen/min reduziert. Das Reaktionsgemisch wird für 240 min gerührt und anschließend in 400 ml eisgekühltes Reinstwasser gegeben, um die Reaktion abbrechen. Diese Suspension wird über einen Büchnertrichter mit Schwarzbandfilter filtriert und das Polymer mit 1000 ml Reinstwasser gewaschen. Im Anschluss daran werden die Polymere noch mit 500 ml Natriumacetatlösung (100 mmol/l, pH 4,75) 500 ml Acetonitril und nochmals 500 ml Reinstwasser gewaschen. Das fertige Austauschermaterial wird mit 20 ml Reinstwasser suspendiert und kann so bis zum Packen der Trennsäulen bei Raumtemperatur in verschließbaren Glasgefäßen aufbewahrt werden.

## 7.5 Herstellung agglomerierter Anionenaustauscher

Neben den reinen zwitterionischen Trennsäulen und deren Charakterisierung wird im Rahmen dieser Arbeit auch die Belegung zwitterionischer Grundmaterialien mit aminierten Latexpartikeln zur Erzeugung pellikularer Anionenaustauscher behandelt. Zur Darstellung dieser Austauscher werden unterschiedliche Grundmaterialien eingesetzt, die allesamt mit kommerziellen Latexpartikeln umgesetzt werden. Verwendet wird hierzu der Metrosep A Supp 10-Latex, zur Verfügung gestellt von der Metrohm AG (Herisau, Schweiz). Die eingesetzte Charge trägt die Bezeichnung Al051206Bmh.

Bei den verwendeten zwitterionischen Grundmaterialien handelt es sich hauptsächlich um Materialien mit dem Sulfobetain 3 als funktionelle Gruppe, also mit C3-Abstand zwischen den Ladungen. Erste Vorversuche werden jedoch auch mit C2-Grundmaterialien durchgeführt. Die Synthese dieser Grundkörper im Rahmen der Pffropfpolymerisation erfolgt nach der bereits vorgestellten Vorschrift aus Kapitel 7.4.1.2. Diese Materialien werden vor der Umsetzung mit dem aminierten Latex Waschschritten mit 1 l Reinstwasser (bezogen auf 3 g Polymer) und anschließend 2 l Natriumcarbonatlösung der Konzentration 20 mmol/l unterzogen.

Nach dem Waschen wird das Grundmaterial in 20 ml Reinstwasser pro Gramm Material suspendiert. Zu diesen Suspensionen werden wiederum pro Gramm Material 0,5 ml Natriumacetatlösung der Konzentration 500 mmol/l bei einem pH-Wert von 4,75 gegeben. Die Natriumacetatzugabe fördert die Ausbildung der hantelförmigen Ladungswolken und damit die Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen für den Angriff der aminierten Latexpartikel.

Die elektrostatische Anbindung der Latexpartikel an das Grundmaterial erfolgt durch Zugabe definierter Mengen der zur Verfügung gestellten Latexemulsion. Dabei wird die Grundmaterialsuspension im Ultraschallbad (Ultraschallgerät RK 100 H, Fa. Bandelin, Berlin) geschwenkt und die Latexemulsion in einer Portion schnell hinzugefügt. Langsames Zutropfen der Latexemulsion zu einer langsam gerührten Polymersuspension ist ebenfalls möglich und liefert die selben Ergebnisse.

Die erhaltenen agglomerierten Austauschermaterialien werden über einen Büchnertrichter mit Schwarzbandfilter filtriert und mit 200 ml Natriumcarbonatlösung (100 mmol/l) pro Gramm Polymer gewaschen. Anschließend werden die Latex-Austauscher in 10 ml Eluent (5 mmol/l Natriumcarbonat und 5 mmol/l Natriumhydrogencarbonat) pro Gramm Austauschermaterial suspendiert und bis zum Packen der Trennsäulen gelagert.

## 7.6 Packen von Trennsäulen

Das Packen der Trennsäulen mit den in den vorangegangenen Abschnitten beschriebenen Austauschermaterialien wird nach der Down-Fill-Technik durchgeführt<sup>[53]</sup>. Für das Packen einer Trennsäule der Dimension 4 mm × 100 mm werden 10 ml der zuvor für 5 min mit Ultraschall behandelten Polymersuspensionen benötigt. Dies entspricht einem Feststoffgehalt von 1,5 g Trockenmasse. Die Packapparatur entspricht dem in Abbildung 7.15 gezeigten Aufbau. Die Apparatur wird entsprechend der Skizze zusammengebaut und mit etwa 100 ml Reinstwasser gespült. Am unteren Ende der Nachsäule wird eine Stahlfritte eingesetzt, um das Packungsmaterial im Säulenkörper zu halten.

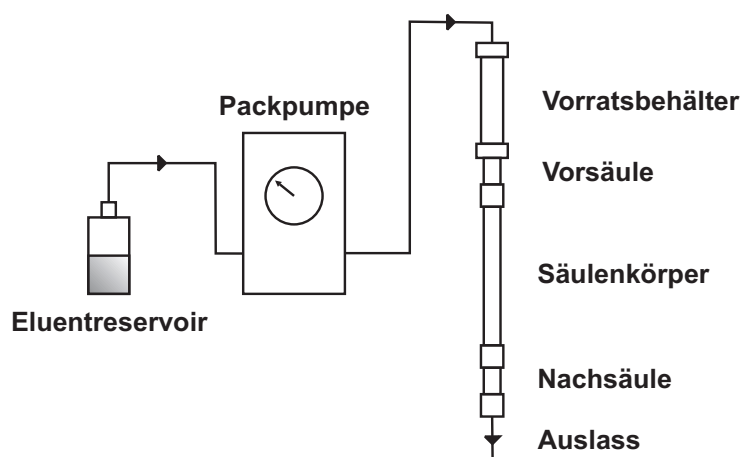


Abbildung 7.15: Schematischer Aufbau der verwendeten Packapparatur.

Der Vorratsbehälter wird über den oberen Verschluss mithilfe einer Spritze geleert und anschließend mit dem suspendierten zwitterionischen Austauschermaterial gefüllt. Zur Vermeidung von

Luft im System wird gegebenenfalls mit Wasser bis zur oberen Kante des Vorratsbehälters aufgefüllt. Über die Packpumpe wird schnell ein Druck von 500 bar angelegt. Als Packflüssigkeit wird im Falle der zwitterionischen Austauscher Reinstwasser eingesetzt. Für die agglomerierten Anionenaustauscher wird eine Lösung aus 5 mmol/l Natriumcarbonat und 5 mmol/l Natriumhydrogencarbonat verwendet die später auch als Eluent für die anionenaustauschchromatographischen Trennungen eingesetzt wird.

Der Druck wird so lange konstant gehalten, bis über den unteren Auslass 200 ml Packflüssigkeit durch das System gepresst wurden. Der Druck wird anschließend langsam abgelassen und der Säulenkörper von der Vorsäule getrennt. Der Säulenanfang wird von überschüssigem Austauschermaterial befreit, mit einer HDPE-Fritte versehen und mit einem konischen PEEK-Flansch und einer Kunststoffverschraubung verschlossen. Anschließend wird der Säulenkörper von der Nachsäule getrennt und mit dem unteren Säulenende ebenso verfahren wie mit dem oberen.

## 7.7 Kapazitätsbestimmungen

Wie in Kapitel 6.5 bereits dargelegt wurde, ist es für die vorliegende Arbeit neben der Charakterisierung der zwitterionischen Monomere essentiell, die Kapazitäten der funktionalisierten Austauschermaterialien korrekt zu bestimmen. Es müssen also Methoden eingesetzt werden, mithilfe derer die Menge an funktionellen Gruppen an der PS/DVB-Oberfläche bestimmt werden kann.

### 7.7.1 Dynamische Kapazitätsbestimmungen

Den Vorzug sollte dabei zunächst die Bestimmung der Kapazitäten über Verdrängungsverfahren haben. Diese werden in wässriger Lösung analog einer chromatographischen Trennung durchgeführt und es können demnach grundsätzlich nur die funktionellen Gruppen detektiert werden, die später für die Analyten auch zugänglich sind. Das Ergebnis dieser Bestimmungen sollte somit die effektive Kapazität im chromatographischen Prozess sein.

Aus der Anionen- und Kationenaustauschchromatographie sind diese dynamischen Verfahren bereits bekannt<sup>[123][37][39]</sup>. Grundsätzlich werden die funktionellen Gruppen der Austauscher zunächst mit einer Ionensorte beladen, anschließend mit Reinstwasser gespült und die beladene Ionensorte danach mit einer anderen Ionensorte verdrängt. Unterscheiden sich die Leitfähigkeiten der beiden Ionensorten, kann über die Leitfähigkeitsdetektion und die Zeit, die bis zum Durchbruch der verdrängenden Ionensorte vergeht, die Kapazität der Austauscher bestimmt werden. Im Falle der Anionenaustauschchromatographie kann z. B. eine Beladung mit Chlorid erfolgen,

welches anschließend durch Hydroxid verdrängt wird. In der Kationenaustauschchromatographie ist die Beladung mit  $H^+$  und eine Verdrängung mit  $Na^+$  oder  $K^+$  denkbar.

Da die im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Austauscher sowohl Anionen- als auch Kationenaustauscherfunktionen tragen, könnten theoretisch beide Gruppen für diese Untersuchungen herangezogen werden. Problematisch ist dabei jedoch, dass ein Spülen mit Reinstwasser zwischen der Beladung und der Verdrängung nicht möglich ist, da selbst mit Reinstwasser stets eine Elution der beladenen Spezies erfolgt. Der Spülschritt muss somit für die hier untersuchten Austauscher entfallen.

Die Bestimmung erfolgt über drei unterschiedliche Varianten, zwei davon unter Verwendung der Leitfähigkeitsdetektion, eine mithilfe der UV/VIS-Detektion. Bei allen Varianten werden zwei zusätzliche Injektionsventile eingesetzt, die wie in Abbildung 7.16 dargestellt direkt vor der HPLC-Pumpe angeordnet sind und ein Umschalten zwischen drei Eluenten ermöglichen.

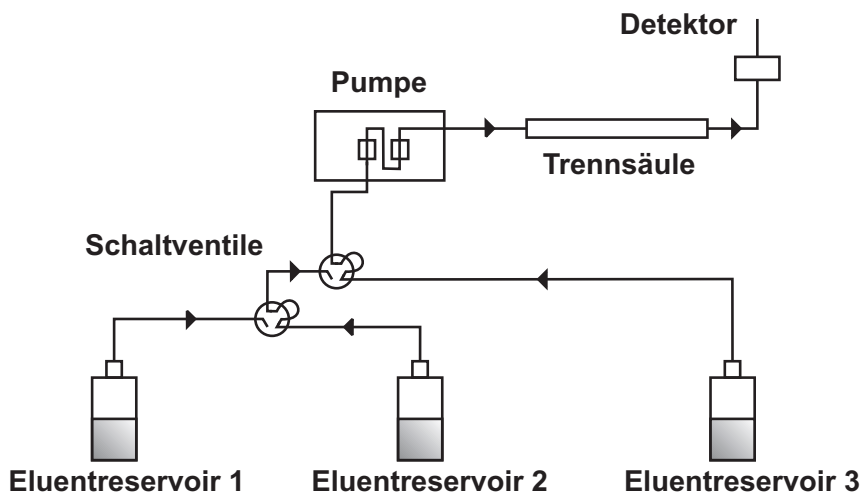


Abbildung 7.16: Schematische Darstellung der verwendeten Schaltventile für den Eluentwechsel.

#### 7.7.1.1 Beladung unbelegter Trennsäulen mit Natriumiodid

Die erste Variante der dynamischen Kapazitätsbestimmung bedient sich der Leitfähigkeitsdetektion. Das chromatographische System ist wie in Abbildung 7.16 aufgebaut, das Austauschermaterial wird jedoch nicht mit einer Ionensorte belegt. Anstelle dessen werden die funktionellen Gruppen vollständig von Eluentgegenionen befreit. Dies wird erreicht, indem die Trennsäule für 24 h bei einer Flussrate von 0,5 ml/min mit Reinstwasser gespült wird. Die Ladungen der Austauschergruppen sollten nun inter- und intramolekular innerhalb der Austauscheroberfläche abgesättigt sein. Nach der Konditionierung wird der Eluent – bei gleichbleibender Flussrate – von Reinstwasser auf 5 mmol/l Natriumiodid gewechselt (siehe Abbildung 7.17). Nach dem

Verstreichen der Totzeit wird die Zeit bis zum Beginn eines starken Anstiegs der Leitfähigkeit bestimmt. Das Totvolumen entspricht in diesem Fall dem Volumen von den der Pumpe vorgeschalteten Injektionsventilen bis hin zum Detektor. Der Leitfähigkeitsanstieg rührt daher, dass nun NaI am Detektor angelangt ist.

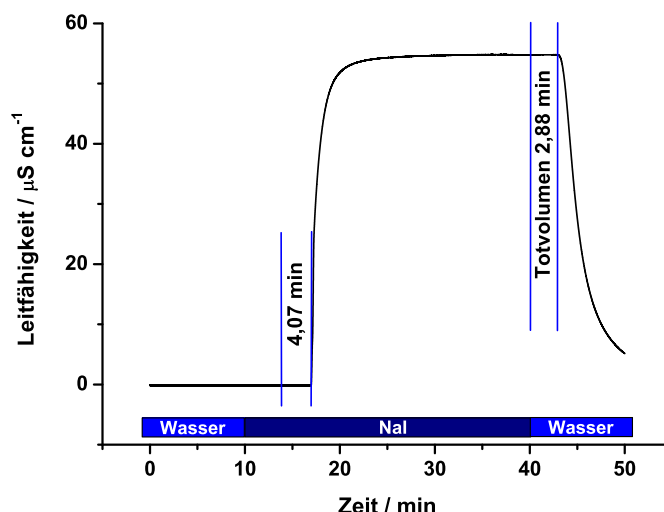


Abbildung 7.17: Kapazitätsbestimmung zwitterionischer Austauscher über die Beladung unbelegter Trennsäulen mit Natriumiodid am Beispiel der Trennsäule SB2-3-1.

Um die Zeitspanne zu bestimmen, die für die Beladung der Austauschermaterialien mit Natriumiodid notwendig ist, muss zunächst die Totzeit des Systems bestimmt werden. Diese kann dadurch bestimmt werden, dass am Ende der eigentlichen Kapazitätsmessung nochmals ein Eluentwechsel durchgeführt wird. In diesem Fall wird nach 40 min von Natriumiodid auf Reinstwasser umgeschaltet. Sobald der Reinstwasser-Eluent das Totvolumen durchlaufen hat und somit das Reinstwasser am Detektor angelangt, kommt es zu einem rapiden Abfall der Leitfähigkeit gegenüber der Leitfähigkeit des Natriumiodideluenten. Im gezeigten Beispiel beträgt die Totzeit 2,88 min, die für die Kapazität entscheidende Zeit 4,07 min. Die Kapazität  $Q$  errechnet sich aus der Durchbruchzeit  $t_D$  in min, der Flussrate  $F$  in Litern sowie der Eluentenkonzentration  $c(\text{Eluent})$  in mol/l wie folgt:

$$Q = t_D \cdot F \cdot c(\text{Eluent}) \quad (7.1)$$

### 7.7.1.2 Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid

Für die zweite Variante der dynamischen Kapazitätsbestimmungen wird ebenfalls die Leitfähigkeitsdetektion eingesetzt. Diesmal wird das Material jedoch mit einer Ionensorte beladen und diese anschließend durch eine andere verdrängt. Die Trennsäule (2 mm i. D.) wird zunächst für

18 h mit 5 mmol/l Natriumiodid-Eluent bei einer Flussrate von 1 ml/min konditioniert. Alle Anionenaustauscherfunktionen sollten daher mit Iodid besetzt sein. Anschließend wird über die Injektionsventile bei gleichbleibender Flussrate von Natriumiodid auf 5 mmol/l Natriumhydroxid umgeschaltet. Die Eluentänderung führt nach Verstreichen der Totzeit bzw. nach Durchlaufen des Totvolumens zunächst zu einer Abnahme der Leitfähigkeit (siehe Abbildung 7.18). Nach einer weiteren, für die Kapazität der Trennsäule spezifischen Zeitspanne, erfolgt ein starker Anstieg der Leitfähigkeit. Dieser Anstieg wird vom durchbrechenden Natriumhydroxid hervorgerufen, welches eine deutlich höhere Äquivalentleitfähigkeit als Natriumiodid besitzt.

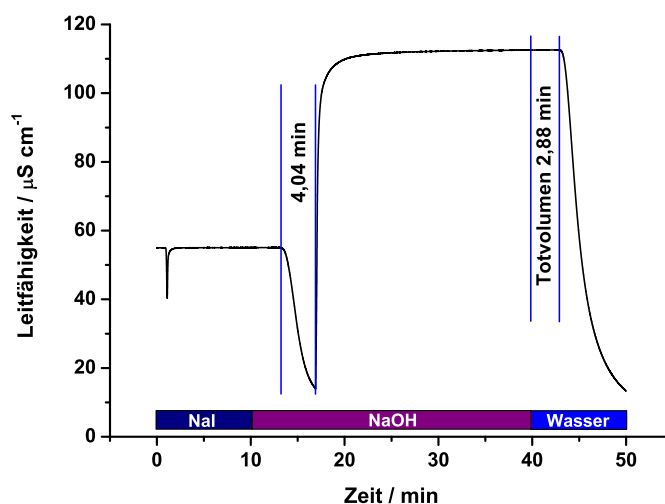


Abbildung 7.18: Kapazitätsbestimmung zwitterionischer Austauscher über die Verdrängung von Natriumiodid durch Natriumhydroxid am Beispiel der Trennsäule SB2-3-1.

Die Totzeit muss auch hier wieder gesondert bestimmt werden. Diese Bestimmung erfolgt analog zur vorangegangenen Variante der Kapazitätsbestimmung, d. h. es wird nach dem Wechsel von Natriumiodid auf Natriumhydroxid wieder zurück auf Reinstwasser gewechselt. Die Zeitspanne vom Umschalten bis zum Beginn des Leitfähigkeitsabfalls entspricht wiederum der Totzeit. Die Berechnung der Kapazität erfolgt ebenfalls nach Gleichung 7.1.

### 7.7.1.3 Verdrängung von Natriumsulfat durch Natriumiodid

Da die Ausbildung einer hantelförmigen Ladungswolke um die Austauschergruppen entscheidend für die Zugänglichkeit dieser ist, liefern die ersten beiden dynamischen Methoden jedoch deutlich zu niedrige Werte für die Kapazitäten. Daher wird in einer dritten Variante von einem hochkonzentrierten Eluenten auf einen Eluenten der Konzentration 5 mmol/l umgeschaltet. Da alle denkbaren ionischen Eluenten mit einer Konzentration von deutlich über 5 mmol/l in der Leitfähigkeitsdetektion ein sehr hohes Signal liefern und damit den Detektor überlasten würden,

muss für diese Variante die UV-Detektion bei 205 nm eingesetzt werden. Bis auf den Wechsel des Detektors bleibt das chromatographische System unverändert.

Die Trennsäule wird zunächst für einen Zeitraum von 4 h mit einem hohen Überschuss an Natriumsulfat der Konzentration 200 mmol/l konditioniert. Natriumsulfat liefert bei 205 nm eine sehr geringe UV-Absorption. Anschließend erfolgt ein Umschalten auf 5 mmol/l Natriumiodid (hohe UV-Absorption). Auch hier muss die Zeit vom Ende des Totvolumens bis zum Beginn des Anstiegs der Absorption bestimmt werden (Beispiel siehe Abbildung 7.19).

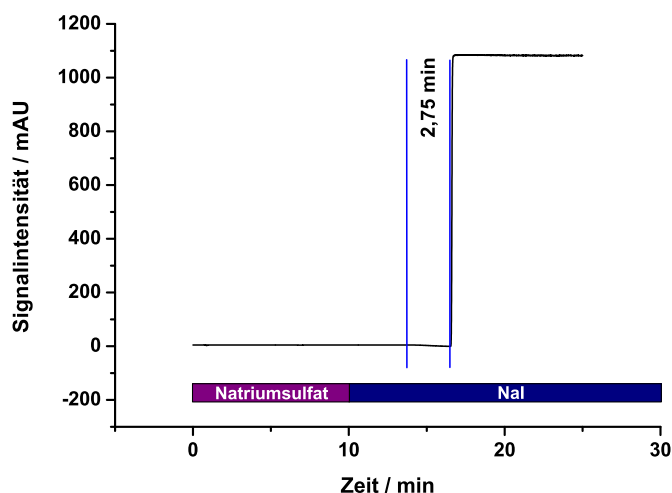


Abbildung 7.19: Kapazitätsbestimmung zwitterionischer Austauscher über die Verdrängung von Natriumsulfat durch Natriumiodid am Beispiel der Trennsäule SB2-3-1.

Die Ermittlung des Totvolumens erfolgt auch hier analog der beiden zuvor beschriebenen Methoden, ebenso wie die Berechnung der Kapazität.

### 7.7.2 Elementspezifische Methoden der Kapazitätsbestimmung

Neben den dynamischen Methoden zur Kapazitätsbestimmung können auch elementspezifische Methoden eingesetzt werden. Dabei werden die funktionellen Gruppen innerhalb der Polymerpartikel über den Schwefel bzw. Stickstoffgehalt quantifiziert. Grundsätzlich können mithilfe elementspezifischer Analysen immer nur die Polymerpartikel als Ganzes untersucht werden. Eine Oberflächenanalytik ist nicht möglich. Es könnten somit also auch für Analyten nicht zugängliche Austauschergruppen detektiert werden. Da die Funktionalisierung jedoch über die radikalische Addition verläuft, ist die Anwesenheit von Austauschergruppen z. B. innerhalb der Partikel oder innerhalb von Microporen unwahrscheinlich.

### 7.7.2.1 Kapazitätsbestimmung mittels Elementaranalyse

Die erste Methode zur Bestimmung der Gesamtkapazitäten ist die Elementaranalytik. Diese ermöglicht die Bestimmung des Schwefel- sowie des Stickstoffgehalts der hergestellten Polymere. Es können somit über die Elementaranalytik beide funktionellen Gruppen der Sulfobetainaus-tauscher unabhängig voneinander bestimmt werden. Hierzu werden etwa 20 mg des jeweiligen Polymers durch die Routineanalytik des Fachbereichs Chemie der Philipps-Universität Marburg unter der Leitung von *Dr. Knecht* untersucht. Der Stickstoffgehalt wird im Rahmen einer klassischen CHN-Analytik durch Hochtemperaturverbrennung einer bekannten Probenmenge, Trennung der entstandenen Verbrennungsgase und die anschließende Bestimmung des N<sub>2</sub>-Gehaltes über einen Wärmeleitfähigkeitsdetektor bestimmt. Das Ergebnis der Analyse ist ein Stickstoffgehalt in Gewichtsprozent, wobei ein Gehalt von 1% (M/M) einer Kapazität von 714  $\mu\text{mol/g}$  Polymer entspricht.

Zur Bestimmung des Schwefelgehaltes wird zunächst über einen oxidativen Aufschluss der im Polymer enthaltene Schwefel zu Sulfat oxidiert. Hierzu werden etwa 40 mg Substanz benötigt. Das so erhaltene Sulfat wird im Rahmen einer Titration mit Bariumperchlorat unter Verwendung einer photometrischen Endpunktserkennung quantitativ nachgewiesen. Auch hierbei wird als Ergebnis ein Schwefelgehalt in Gewichtsprozent ausgegeben – 1% (M/M) Schwefelgehalt entspricht einer Kapazität von 313  $\mu\text{mol/g}$  Polymer.

### 7.7.2.2 Kapazitätsbestimmung mittels ICP-AES-Analytik

Analog zur Elementaranalytik werden noch weitere Methoden eingesetzt, mit denen die Gesamtkapazität der Austauschermaterialien bestimmt werden kann. So ist es ebenfalls möglich, den Schwefelgehalt von Polymeren zu bestimmen, indem entsprechende Polymersuspensionen mithilfe eines ICP verdampft und atomisiert werden, und deren Lichtemission auf einer Schwefellinie (180,734 nm) detektiert wird.

Um stabile Suspensionen zu erhalten werden je 10 mg der getrockneten zwitterionischen Austauschermaterialien mit 10 mg Triton X-100 versetzt und mit Reinstwasser auf 10 g aufgefüllt. Der Zusatz des Tensids soll die Stabilität der Suspension erhöhen und ein Absetzen der Polymerpartikel verlangsamen. Unter ständigem Rühren mithilfe eines Magnetrührers mit Rührfisch werden die Suspensionen über eine peristaltische Pumpe dem Zerstäuber des ICP-AES zugeführt. Als Referenzstandards werden wässrige Lösungen von Ammoniumsulfat vermessen.

Der Konzentrationsbereich der Sulfatstandards reicht von 0,1 mg/kg bis 1572 mg/kg. Aus den Standardmessungen wird eine Kalibrationsgerade erstellt, über die später die gemessenen Werte



der Suspensionen einer Schwefelkonzentration zugeordnet werden können. Für die Polymersuspensionen werden somit ebenfalls Werte mit der Einheit mg/kg erhalten. Da die Suspensionen je 10 mg Polymer pro 10 g Reinstwasser enthalten, entspricht der Betrag des Schwefelgehaltes der Suspensionen in mg/kg gerade dem Betrag des Schwefelgehaltes der Polymere in mg/g. Über die molare Masse des Schwefels kann somit die Kapazität des Materials in  $\mu\text{mol/g}$  Polymer bzw. in  $\mu\text{eq/g}$  errechnet werden.

Die absoluten Schwefelgehalte, die diese Methode liefert, sind aufgrund des Vergleichs mit Sulfatlösungen als Referenzstandards jedoch verhältnismäßig schlecht.

### 7.7.2.3 Kapazitätsbestimmung mittels Röntgenfluoreszenzanalyse

Aus diesem Grund wird die Schwefelbestimmung über Röntgenfluoreszenzanalyse als weitere Methode zur Kapazitätsbestimmung eingeführt. Hierbei werden je 250 mg an getrockneten Polymerproben auf geeignete Probenträger aufgebracht.

Als Referenzstandards sollen hierbei den zwitterionischen Polymeren ähnliche Materialien zum Einsatz kommen. Um dies zu gewährleisten, werden je 1,0 g unfunktionalisiertes Polymer zunächst in 20 ml Aceton/Reinstwasser (20:80) suspendiert. Zu diesen Suspensionen werden 10  $\mu\text{l}$  bis 10 ml einer Ammoniumsulfatlösung der Konzentration 10 mmol/l gegeben, um absolut gesehen Referenzstandards mit 0,1  $\mu\text{mol}$  bis 100  $\mu\text{mol}$  pro Gramm Polymer zu erhalten. Nach intensiver Durchmischung der Suspensionen werden diese bei 338 K bis zur Gewichtskonstanz getrocknet. Das kristalline Ammoniumsulfat ist dabei statistisch über das unfunktionalisierte PS/DVB verteilt.

Auch von diesen Referenzstandards werden je 250 mg auf Probenträger aufgebracht und mittels Röntgenfluoreszenzanalyse untersucht. Zur Detektion werden die  $K\alpha_{1,2}$ -Linien des Schwefels bei einer Wellenlänge von 5,3731 Å unter Spülung der Messkammer mit Helium herangezogen. Die Dispersion erfolgt an einem PET-Kristall, die Detektion mittels Durchflussdetektor. Mithilfe der Referenzstandards wird eine Kalibrationsgerade erstellt, über welche die Schwefelgehalte der zwitterionischen Polymere ermittelt werden können.

## 7.8 Herstellung der verwendeten Lösungen

Die zur Herstellung der Lösungen verwendeten Chemikalien sind bereits in den Tabellen 7.2 bis 7.5 zusammengefasst.

Alle weiteren verwendeten Chemikalien, wie z. B. Salpetersäure für die pH-Wert-Anpassung, werden mindestens in der Qualität p. a. eingesetzt. Zum Ansetzen wässriger Lösungen wird ebenfalls Reinstwasser ( $18,2 \text{ M}\Omega \cdot \text{cm}$ , Fa. Millipore, Bedford, MA, USA) verwendet.

### 7.8.1 Messstandards für die Chromatographie

Im Rahmen der chromatographischen Messungen in diversen Messmodi (ZIC, ZIC-HILIC) werden eine Vielzahl von Messstandards benötigt. Grundsätzlich ist dabei die Vorgehensweise für die Herstellung dieser Standards in allen Fällen gleich.

Alle Messstandards werden durch Verdünnung aus zuvor bereiteten Stammlösungen hergestellt. Die Stammlösungen werden in 100 ml HDPE-Gefäßen mit Konzentrationen von 2000 mg/kg angesetzt. Je nach Löslichkeit und Abbaubarkeit der Analyten werden die Stammlösungen durch Auffüllen mit unterschiedlichen Lösungsmitteln oder aber unter Zusatz von Bioziden hergestellt.

Die Anionenstammlösungen werden erzeugt, indem die entsprechenden Mengen leicht löslicher Salze in Reinstwasser gelöst werden. Die Konzentration von 2000 mg/kg bezieht sich bei diesen Standards auf die Konzentration der reinen Anionen. Diese Stammlösungen sind bei Raumtemperatur unbegrenzt haltbar. Die Messlösungen werden durch Verdünnung mit Reinstwasser erhalten und sind über Wochen verwendbar.

Aliphatische Carbonsäurestammlösungen werden durch Lösen der freien Carbonsäuren in Wasser hergestellt. Im Falle der aromatischen Carbonsäurestammlösungen wird ein Lösungsmittelgemisch von Acetonitril/Wasser (50:50) unter Zusatz von  $20 \mu\text{l}$  Natronlauge (50%) verwendet, um die Analyten vollständig in Lösung zu bringen. Die so erzeugten Stammlösungen werden bei 277 K gelagert und sind so – mit Ausnahme der Acetylsalicylsäurestammlösung – über einen Zeitraum von mehreren Monaten haltbar. Die Acetylsalicylsäurestammlösung muss zweiwöchentlich neu angesetzt werden. Die Messstandards werden durch Verdünnung mit Reinstwasser erzeugt und können, bei 277 K gelagert, – ebenfalls mit Ausnahme der Acetylsalicylsäure – für den Zeitraum von einer Woche verwendet werden.

Die Flavonoide Rutin und Quercetin sowie die Wirkstoffe Paracetamol, Colchicin und Ampicillin werden in 100% Acetonitril gelöst und bei 277 K gelagert. Die Messstandards werden durch Verdünnung mit Wasser oder Eluent hergestellt und können, bei 277 K gelagert, über mehrere Wochen verwendet werden.

Die Herstellung der Zucker- und Aminosäurenstammlösungen erfolgt durch Lösen der Zucker bzw. Aminosäuren in Reinstwasser unter Zugabe von 1 ml einer Natriumazidlösung der Konzentration 2000 mg/l. Diese Stammlösungen sind etwa sechs Monate lang bei 277 K haltbar.

Die Messstandards werden durch Verdünnung mit Reinstwasser erzeugt und ebenfalls bei 277 K gelagert. Diese können für eine Woche verwendet werden.

Neben den oben genannten pharmazeutischen Wirkstoffen werden auch die unter das Gesetz über den Verkehr mit Betäubungsmitteln (BtMG) fallenden Substanzen Butyro-1,4-Lacton (veraltet  $\gamma$ -Butyrolacton, GBL) sowie 4-Hydroxybuttersäure (veraltet  $\gamma$ -Hydroxybuttersäure, GHB) als Analyten eingesetzt. GBL ist in technischer Qualität kommerziell erhältlich. Durch Lösen in 100% Acetonitril wird eine Stammlösung hergestellt, die bei 277 K gelagert wird und mehrere Monate lang haltbar ist. Die Messlösungen werden durch Verdünnung mit Reinstwasser oder Eluent hergestellt, ebenfalls bei 277 K gelagert und sind über mehrere Wochen verwendbar. GHB muss zunächst nach nachfolgender Vorschrift aus GBL hergestellt werden.

#### Synthese von 4-Hydroxybuttersäure (GHB) zur Herstellung eines Messstandards

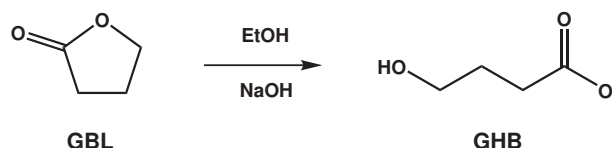


Abbildung 7.20: Syntheseroute für 4-Hydroxybuttersäure (**GHB**).

Die Herstellung von 4-Hydroxybuttersäure (**GHB**) gelingt durch basische Hydrolyse des Butyro-1,4-lactons. In einem Rundkolben werden 4,30 g Butyro-1,4-lacton (0,050 mol, 86,09 g/mol, 1,0 eq) in 20 ml Ethanol gelöst. Zu dieser Lösung werden 4,00 g Natronlauge (0,050 mol, 40,00 g/mol, 50%-Lösung in Wasser, 1,0 eq) gegeben. Durch das Lösen der NaOH im ethanolischen Reaktionsgemisch entsteht eine initiale Temperaturerhöhung auf etwa 328 K, die Hydrolyse beginnt. Anschließend wird für 18 h bei Raumtemperatur gerührt. Sofern der pH-Wert der Reaktionslösung nicht 7,0 beträgt, wird mit NaOH/HCl neutralisiert. Danach werden die Lösungsmittel unter vermindertem Druck entfernt. Es wird in quantitativer Ausbeute farbloser Feststoff als Produkt erhalten.

<sup>1</sup>H-NMR (**D<sub>2</sub>O**, 300 MHz): 3,57 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 6,7 Hz, HOCH<sub>2</sub>); 2,21 (t, 2H, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz, C<sub>q</sub>CH<sub>2</sub>); 1,77 (dt, 2H, <sup>3</sup>J = 7,7 Hz, <sup>3</sup>J = 6,7 Hz, -CH<sub>2</sub>-).

<sup>13</sup>C-NMR (**D<sub>2</sub>O**, 75 MHz): 183,1 (COOH); 61,6 (HOCH<sub>2</sub>); 34,0 (HOOCCH<sub>2</sub>); 28,4 (HOCH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>).

Aus diesem Feststoff wird durch Lösen in Reinstwasser eine Stammlösung hergestellt, die analog den Carbonsäurestammlösungen bei 277 K gelagert für mehrere Monate haltbar ist. Die Messlösungen werden durch Verdünnung mit Reinstwasser erzeugt und sind bei 277 K für mehrere Wochen verwendbar.

### 7.8.2 Eluenten

Als Eluenten kommen für die einzelnen Operationsmodi (ZIC, ZIC-HILIC) und die unterschiedlichen Analyten sehr verschiedene Zusammensetzungen zum Einsatz. Die Bandbreite reicht von rein wässrigen Natriumhydrogencarbonat-Eluenten bis hin zu ZIC-HILIC-Eluenten mit Acetonitrilanteilen von 90% und Natriumperchlorat als ionischer Komponente. Allen Eluenten ist jedoch gemeinsam, dass sie durch Lösen von Reinsubstanzen (Qualität p. a.) in Reinstwasser hergestellt werden. Die Mischung mit evtl. verwendeten organischen Modifiern erfolgt über ein Hochdruckgradientensystem mithilfe zweier HPLC-Pumpen nach vorangegangener On-line-Entgasung der Eluentbestandteile.

Die Eluenten für die Verwendung in der Leitfähigkeits- und UV-Detektion, ebenso wie für die Messungen unter IC-ICP-MS-Kopplung werden in Glasflaschen hergestellt. Die Eluenten für die Zucker- sowie Aminosäurenanalytik werden in HDPE-Gefäßen angesetzt.

### 7.8.3 Regenerant für die Leitfähigkeitsdetektion

Bei Anionenmessungen unter Verwendung der Leitfähigkeitsdetektion wird meist mit Suppressionstechnik gearbeitet. Zum Einsatz kommt dabei ein Säulensuppressor, dessen Kartuschen der Reihe nach kontinuierlich mit Schwefelsäure regeneriert und anschließend mit Reinstwasser gespült werden müssen, um für den nächsten Suppressionseinsatz vorbereitet zu sein. Für die Regeneration wird eine Schwefelsäurelösung der Konzentration 50 mmol/l hergestellt. Dies geschieht durch Verdünnung von konzentrierter Schwefelsäure mit Reinstwasser. Die Regenerationslösung wird in einer 5 l Glasflasche aufbewahrt.

### 7.8.4 Nachsäulenadditiv für die PAD

Als Nachsäulenadditiv für die Kohlenhydrat- und Aminosäurenanalytik mittels PAD werden Hydroxidlösungen der Konzentration 300 mmol l<sup>-1</sup> eingesetzt. Diese werden aus 50%iger Natronlauge durch Verdünnen mit Reinstwasser hergestellt. Die Konzentrationsbestimmung erfolgt in regelmäßigen Abständen durch Titration gegen Salzsäure. Das Nachsäulenadditiv wird ebenfalls in HDPE-Gefäßen aufbewahrt. Diese werden mit CO<sub>2</sub>-absorbierenden Trockenrohren ausgestattet, um die Kohlendioxidaufnahme aus der Luft und damit eine Carbonatverunreinigung zu verringern.

## 7.9 Aufbau der verwendeten chromatographischen Systeme

Alle verwendeten chromatographischen Systeme folgen in ihrem Aufbau vom Grundprinzip her dem in Abbildung 2.14 dargestellten Standardaufbau einer IC-Anlage. Abhängig vom verwendeten Detektionsprinzip und vom verwendeten Eluentgemisch wird dieser Aufbau jedoch für die einzelnen Methoden modifiziert. Im nachfolgenden Kapitel sind die eingesetzten Apparaturen nach Detektionsmethoden eingeteilt und jeweils mit entsprechenden Systemskizzen dargestellt. Die verwendeten Kapillaren bestehen aus PEEK (Poly-Ether-Ether-Keton).

### 7.9.1 Aufbau des Systems mit suppressierter Leitfähigkeitsdetektion

Die Apparatur zur Trennung und Detektion von Anionengemischen mit Carbonat-/Hydrogencarbonat-Eluenten stellt lediglich eine leichte Modifikation des Standardaufbaus dar und ist in Abbildung 7.21 dargestellt. Der Unterschied zu diesem liegt nur in der Verwendung eines Säulenthmostaten, dessen Temperatur auf 308 K gehalten wird. Zur Suppression wird ein Säulensuppressor in Revolverausführung verwendet, die Regeneration erfolgt mithilfe von Schwefelsäure der Konzentration 50 mmol/l und anschließendem Spülen mit Reinstwasser.

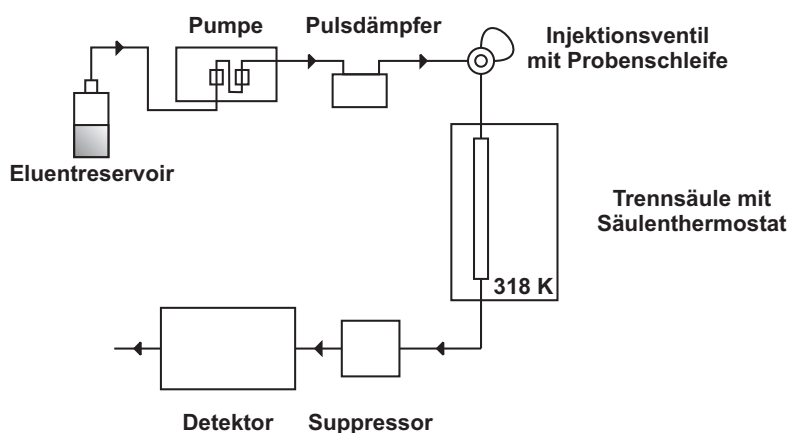


Abbildung 7.21: Schematischer Aufbau der verwendeten IC-Anlage mit suppressierter Leitfähigkeitsdetektion.

### 7.9.2 Aufbau des Systems mit UV/VIS-Detektion

Das System für Messungen mit UV/VIS-Detektion verwendet ebenfalls einen Säulenthmostaten und ist zudem um eine zusätzliche HPLC-Pumpe erweitert. Die Verwendung zweier HPLC-Pumpen ermöglicht die Mischung von wässriger Phase und organischem Modifier im

Hochdruckbereich. Während die Pumpe für die Förderung der wässrigen Phase aus PEEK besteht, wird für den organischen Anteil ein Stahlpumpenkopf verwendet. Dieser weist eine höhere Stabilität gegenüber unpolaren Lösungsmitteln auf, als PEEK-Pumpenköpfe. Der schematische Aufbau ist in Abbildung 7.22 dargestellt.

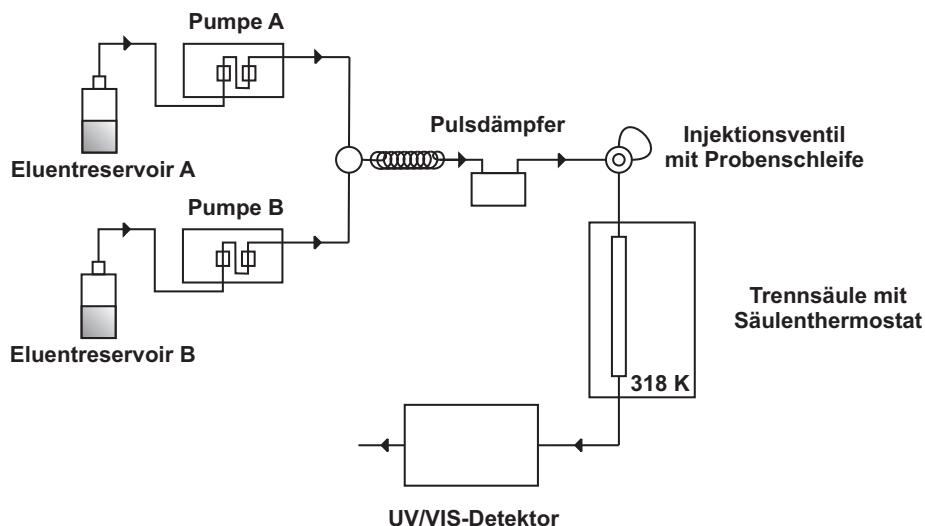


Abbildung 7.22: Schematischer Aufbau der verwendeten IC-Anlage mit Hochdruckgradientensystem und UV/VIS-Detektion.

Im Anschluss an ein T-Stück ist dabei eine Eluentmischschleife geschaltet, um eine homogene Durchmischung der Eluentbestandteile zu gewährleisten. Die Eluentmischschleife besteht – im Gegensatz zum Rest der Kapillaren – aus Edelstahl. Dies soll ebenfalls eine gesteigerte Lösungsmittelstabilität der empfindlichen Kapillarverbindung bewirken. Zudem werden die einzelnen Eluentbestandteile, besonders aber der organische Modifier, vor Durchlaufen der Pumpe on-line mithilfe eines Vakuumentgasers (nicht eingezeichnet) entgast. Auf diese Weise sind Gradiententrennungen sowie schnelle Eluentvariationen ohne vorheriges Mischen der Bestandteile möglich.

### 7.9.3 Aufbau des Systems mit amperometrischer Detektion

Die für die Kohlenhydrat- und Aminosäurenbestimmung eingesetzte IC-Anlage ist in Abbildung 7.23 schematisch dargestellt. Die Besonderheit dieses Aufbaus liegt in der Verwendung eines Nachsäulenreaktors für die Addition von Natronlauge.

Die Addition von hochkonzentrierter Natronlauge ist für Eluenten niedriger Natronlaugekonzentration unerlässlich, da ansonsten an der Elektrode abgelagerte Oxidationsrückstände die Messsignale verfälschen. Durch eine Gesamt-NaOH-Konzentration von mindestens 100 mmol/l, kann die Ablagerung dieser Rückstände erfolgreich verhindert werden.

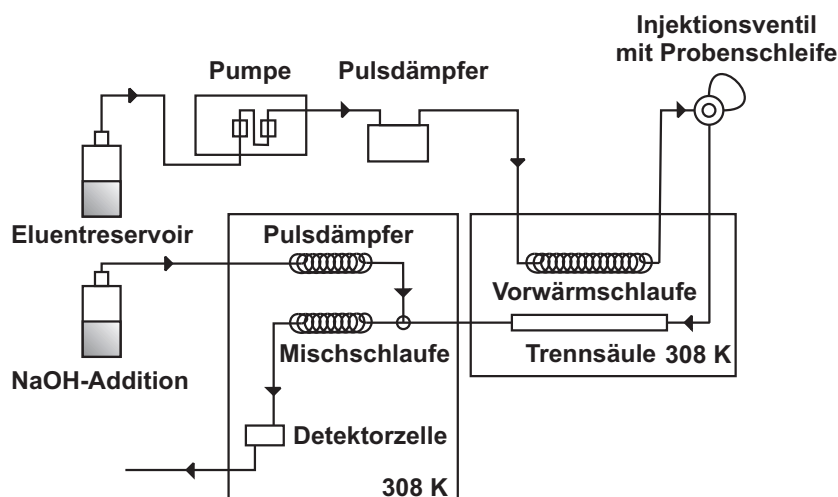


Abbildung 7.23: Schematischer Aufbau der verwendeten IC-Anlage mit PAD.

Die Zugabe der Natronlauge kann über eine peristaltische Pumpe oder aber mittels einer weiteren HPLC-Pumpe erfolgen. Im Rahmen dieser Arbeit wird – aus Gründen der Reproduzierbarkeit – grundsätzlich eine HPLC-Pumpe für diesen Zweck eingesetzt. Durch die Zusammenführung über ein T-Stück und eine nachfolgende Eluentmischschleife aus Poly-Ether-Ether-Keton wird die zugesetzte Natronlauge mit dem Eluenten aus der Trennsäule homogen vermischt. Die Mischung sowie die Detektion erfolgen in einem temperierten Gehäuse, da die gepulste amperometrische Detektion sehr anfällig gegenüber Temperaturschwankungen ist.

Die für die Aminosäuren- und Zuckerdetektion eingesetzten Pulssequenzen sind in Tabelle 7.8 zusammengefasst.

Tabelle 7.8: Für die Aminosäuren- und Zuckerdetektion eingesetzte Pulssequenzen.

Aminosäuren		Zucker		Funktion
Potential	Dauer	Potential	Dauer	
0,13 V	0,3 s	0,05 V	0,3 s	Äquilibration des Messpotentials
0,13 V	0,1 s	0,05 V	0,1 s	Messung
0,75 V	0,2 s	0,75 V	0,2 s	Oxidative Reinigung
-0,15 V	0,4 s	-0,15 V	0,4 s	Reduktion der Goldelektrode

## 7.10 Gerätespezifikationen

### 7.10.1 Spezifikationen der chromatographischen Systeme

Bei den verwendeten chromatographischen Systemen handelt es sich um modular aufgebaute IC-Apparaturen (Fa. Metrohm AG, Herisau, Schweiz). Die Pumpenköpfe der eingesetzten HPLC-Pumpen bestehen – je nach Anforderung – aus Stahl oder aus PEEK, die Kapillaren grundsätzlich aus PEEK. Die Spezifikationen der Systeme sind in Tabelle 7.9 zusammengefasst.

Tabelle 7.9: Gerätespezifikationen der IC-Anlagen.

Gerät	Typ/Spezifikation	Hersteller
Pumpe	709 IC Pump (PEEK Pumpenkopf)	Metrohm
	709 IC Pump (Stahl Pumpenkopf)	Metrohm
	844 UV/VIS Compact IC	Metrohm
Entgaser	ERC-3315	Gynkotek
Interface	762 IC Interface	Metrohm
Probenwechsler	766 IC Sample Processor	Metrohm
Injektionsventile	812 Valve Unit	Metrohm
	820 IC Separation Center	Metrohm
	844 UV/VIS Compact IC	Metrohm
Kommerzielle Trennsäulen	ZIC-pHILIC (100 mm x 4,6 mm)	SeQuant
	ZIC-HILIC (100 mm x 4,6 mm)	SeQuant
Suppressor	833 IC Liquid Handling Unit	Metrohm
Nachsäulenreaktor	Post column reactor 6.2836.000	Metrohm
Detektoren	819 IC Detector (Leitfähigkeitsdetektor)	Metrohm
	817 Bioscan (PAD)	Metrohm
	844 UV/VIS Compact IC	Metrohm
	ICP-MS 7500ce	Agilent
Datenauswertung	Software ICNet 2.3 SR 3	Metrohm

### 7.10.2 Spezifikationen der weiteren verwendeten Geräte

Neben den chromatographischen Systemen wurden weitere analytische Messgeräte eingesetzt, um u. a. die hergestellten zwitterionischen Monomere oder aber die fertigen Sulfobetain austau-



scher charakterisieren zu können. Die im Rahmen dieser Arbeit für diese Zwecke eingesetzten Geräte und ihre Spezifikationen sind in Tabelle 7.10 zusammengefasst.

Tabelle 7.10: Gerätespezifikationen der weiteren verwendeten Geräte.

Gerät	Typ/Spezifikation	Hersteller
Elementaranalysen- Gerät	Vario EL	Elementar Analysengeräte
Hydraulikaggregat (Packpumpe)	LP-1078	Haskel
ICP-AES	Spectroflame P Software Smart Analyzer 2.25	Spectro Analytical Instruments GmbH
Röntgenfluoreszenz- spektrometer	ARL Optim'X Software Oxsas 1.2	Thermo Fisher



## 8 Zusammenfassung und Ausblick

Bereits zu Beginn dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die Herstellung zwitterionischer stationärer Phasen mit kovalent angebundenen zwitterionischen funktionellen Gruppen sowohl aus wissenschaftlicher als auch aus kommerzieller Sicht interessant ist. Zwitterionische Austauscher – insbesondere in ihrer Anwendung für ZIC-HILIC-Trennungen – gewinnen zunehmend bei Forschergruppen und Anwendern an Interesse, da unter ZIC-HILIC-Bedingungen gerade die Gruppe von Analyten getrennt und nachgewiesen werden kann, die mittels RP-HPLC nicht oder nur schlecht zugänglich ist. Zu dieser Gruppe von Analyten zählen vor allem polare organische Moleküle<sup>[5]</sup>, also biologisch und medizinisch interessante Substanzen wie z. B. Proteine, Aminosäuren oder pharmakologische Wirkstoffe.

Die ZIC-HILIC stellt eine – zur RP-HPLC komplementäre – flüssigkeitschromatographische Methode dar und ist in der Lage, polare Analyten zu trennen. Im Gegensatz zur NP-HPLC bietet die ZIC-HILIC unkomplizierte Trennungen mit geringer Störungsanfälligkeit<sup>[3]</sup>. Ein Interesse aus Sicht potentieller Anwender ist daher gegeben, zumal kommerziell momentan nur sehr wenige Trennsäulen erhältlich sind.

Aus wissenschaftlicher Sicht sind kovalent gebundene zwitterionische stationäre Phasen nicht weniger interessant. Bislang wurden zwar diverse Untersuchungen bezüglich der Retentionsmechanismen unter ZIC-Bedingungen durchgeführt und auch verschiedene Theorien diesbezüglich aufgestellt<sup>[28][11]</sup>. Die gesamte Mechanismusaufklärung wurde jedoch unter Einsatz dynamisch belegter zwitterionischer Austauscher durchgeführt. Es wurden hierbei mit zwitterionischen Tensiden behandelte RP-Trennsäulen eingesetzt. Die Anbindung der eigentlichen funktionellen Gruppen erfolgte über hydrophobe Wechselwirkungen. Aus diesem Grund weisen die untersuchten dynamisch belegten Austauscher auch nicht die Fähigkeit zu ZIC-HILIC-Trennungen bei Gehalten an organischen Modifiern zwischen 60% und 90% auf. Unter diesen Bedingungen würden die hydrophob angebundenen Tenside von der eigentlichen stationären Phase eluiert werden, die zwitterionische Phase also zerstört werden.

Zudem wurden bislang ausnahmslos alle mechanistischen Untersuchungen mit Sulfobetainenaustauschern durchgeführt, die drei Methylengruppen zwischen der Sulfonsäure und dem quartären Amin tragen. Diesen Ladungsabstand weisen auch die kommerziell erhältlichen Trennsäulen ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC (SeQuant/Merck, Darmstadt, Deutschland) auf.

Aus diesem Grund wurde im Rahmen dieser Arbeit versucht, eine homologe Reihe kovalent gebundener zwitterionischer Austauscher herzustellen und diese chromatographisch zu charakterisieren. Die verschiedenen Materialien der homologen Reihe sollten sich dabei lediglich in den Abständen zwischen den Ladungen unterscheiden, um über diesen Abstand – und die damit verbundenen Unterschiede in den Polaritäten und den räumlichen Anordnungen der funktionellen Gruppen – Aussagen über die während ZIC- und ZIC-HILIC-Trennungen ablaufenden Trennmechanismen machen zu können.

Die Herstellung der geplanten Austauschermaterialien ist im Rahmen dieser Arbeit für funktionelle Gruppen mit Ladungsabständen von einer bis zu fünf Methylengruppen gelungen. Dabei wurden jeweils zunächst zwitterionische Vorläufermoleküle als Styrolerivate hergestellt. Die Synthese dieser monomeren Vorläufer ermöglichte ausführliche Charakterisierungen, die bei polymeren Materialien nicht möglich gewesen wären. So konnte z. B. gezeigt werden, dass die Sulfobetainmonomere **SB3** und **SB4**, mit drei bzw. vier Methylengruppen zwischen den Ladungen, aufgrund des Syntheseweges frei von Gegenionen hergestellt werden konnten. Alle anderen Iomere lagen hingegen als Natriumsalze der Sulfonsäuren mit Chlorid oder Bromid als Gegenionen für die quartären Amine vor.

Des Weiteren war die Bestimmung der Polaritäten der zwitterionischen Monomere mittels RP-HPLC möglich. Aus diesen Untersuchungen konnte geschlossen werden, dass der kurze Abstand zwischen den Ladungen des **SB1**-Monomers nicht zu einer vollständigen Ladungstrennung führt, wodurch das **SB1**-Ionomer nach außen hin polarer wirkt als das nächst höhere Homologe. Für das **SB2**-Ionomer ist der Spacer aus zwei Methylengruppen hingegen lang genug, um eine vollständige Ladungstrennung zu erreichen und zudem so kurz und unflexibel, dass die funktionellen Gruppen von Austauschern dieses Ionomers immer linear ausgerichtet in Richtung der mobilen Phase stehen.

Bei den Vergleichen der später hergestellten Trennsäulen konnte so gezeigt werden, dass die Anionenretention unter ZIC-Bedingungen (wässrige Eluenten mit Elutionen) beim **SB2**-Austauscher nicht von der Elutionenstärke abhängt. Dies steht im Gegensatz zu den bisher postulierten Theorien<sup>[28][11]</sup> und führt zu dem Schluss, dass Anionentrennungen nicht von der Ausbildung binärer elektrischer Doppelschichten (EDL), sondern vielmehr von der geometrischen Ausrichtung und damit von der Zugänglichkeit der funktionellen Gruppen abhängen. Das Vorhandensein und der Einfluss von *Donnan*-Membranen, wie er von *Cook et al.*<sup>[12]</sup> als Erklärung vorgeschlagen wurde, konnte hingegen eindeutig bestätigt werden.

Bevor eine chromatographische Herangehensweise an die Mechanismenaufklärung stattfinden konnte, mussten jedoch zunächst zuverlässige Wege zur Kapazitätsbestimmung zwitterionischer stationärer Phasen gefunden werden. Aus der Ionenaustauschchromatographie bekannte dynamische Methoden lieferten jedoch nur mäßige Ergebnisse. Als gut einsetzbar stellten sich ele-

mentanalytische Techniken wie die Elementaranalyse der Schwefel- und Stickstoffgehalte über die Verbrennungsanalytik, ICP-MS-Detektionen der Schwefelgehalte von Polymersuspensionen sowie Röntgenfluoreszenzanalyse zur Bestimmung der Schwefelgehalte heraus, die jeweils gut korrelierende Elementgehalte lieferten.

Neben der Aufklärung der Retentionsmechanismen lieferte die Trennung anorganischer Anionen besonders unter Verwendung des **SB5**-Austauschers sehr gute Ergebnisse, die deutlich über den Trennleistungen der kommerziell erhältlichen Austauscher ZIC-HILIC und ZIC-pHILIC lagen.

Im Rahmen von ZIC-Trennungen von  $\alpha$ -Aminosäuren konnte zudem ein bisher nicht beobachtetes Verhalten der Sulfobetain austauscher gezeigt werden. So können Aminosäuren unter rein wässrigen Bedingungen sehr gut getrennt werden. Die Trennung verläuft jedoch über reine kationenaustauschchromatographische Trennmechanismen. Bislang war von Sulfobetain austauschern bekannt, dass diese unter ZIC-Bedingungen nur mäßig zur Trennung von Kationen geeignet sind. Für kleine, anorganische Kationen trifft dies auch zu. Aminosäuren stellen diesbezüglich also eine Besonderheit dar.

Neben dem ZIC-Bereich konnten auch im ZIC-HILIC-Modus gute Trennungen z. B. von aliphatischen Carbonsäuren oder Flavonoiden erreicht werden. Die Untersuchung dieser Trennungen sowie der Anionenretention unter Variation der Eluentzusammensetzung (Ionenstärke, Eluent-pH-Wert) lieferte mechanistische Erklärungsansätze für die ZIC-HILIC-Retention. So konnte gezeigt werden, dass neben der hydrophilen Partitionierung (reversed RP-Mechanismus) auch die Ausbildung von *Donnan*-Membranen und die aus der ZIC bekannten chaotropen Effekte Einflüsse auf die Trennungen haben. ZIC-HILIC-Trennungen beruhen jedoch grundsätzlich auf einer Mischung all dieser Einzelkomponenten. Ob und wie stark der Einfluss der unterschiedlichen Mechanismen ist, hängt allerdings in erster Linie von den Eigenschaften der zu untersuchenden Analyten ab.

In Bezug auf die ZIC konnten also – besonders aufgrund des Vorliegens der homologen Reihe an Austauschern – tiefgehende mechanistische Einblicke gewonnen werden, die dazu beitragen, diese Trennungen besser verstehen und damit besser kontrollieren zu können. Unter ZIC-HILIC-Bedingungen wurden erste Erklärungsansätze für die beobachteten Effekte gefunden. Eine genaue Zuordnung der Beiträge einzelner Trennmechanismen war aufgrund der Vielfalt der an Trennungen beteiligten Faktoren jedoch noch nicht abschließend möglich.

In dieser Hinsicht und in Bezug auf die Kapazitätsabhängigkeit der ZIC- und ZIC-HILIC-Trennungen besteht noch erheblicher Forschungsbedarf. Im Rahmen dieser Arbeit konnte das Handwerkszeug für tiefgehende mechanistische Untersuchungen in Form der Synthese einer homologen Reihe zwitterionischer Austauscher geliefert werden. Darauf aufbauend ist es aber

dringend erforderlich, zunächst den Einfluss der Austauscherkapazitäten auf die einzelnen Trennungen zu untersuchen. Dies sollte im Idealfall für alle fünf Ladungsabstände geschehen. Zudem wäre es interessant, ein breites Spektrum an Analyten aus verschiedensten Substanzklassen im Rahmen von ZIC-HILIC-Trennungen zu untersuchen. Durch die Wahl geeigneter Analyten mit unterschiedlichen Substanzeigenschaften und die Untersuchung der Veränderung von Retentionsfaktoren bei Eluent-Variation, sollten weitere mechanistische Untersuchungen der ZIC-HILIC-Trennungen möglich sein. Zudem könnten über ein umfangreiches Analyt-Trennsäulen-Screening besonders gute Analyt/Trennsäulen-Paare ermittelt werden, die letztlich ihren Weg in kommerzielle Applikationen finden könnten.

Diese Arbeit liefert also eine bisher nicht vorhandene Reihe an stationären Phasen, die ein enormes Potential als Untersuchungsgegenstand für zukünftige mechanistische Betrachtungen liefert. Die gezeigten chromatographischen Charakterisierungen sollten daher als erste Schritte in Bezug auf die Mechanismenaufklärung der ZIC-HILIC-Trennungen angesehen werden.

# Literaturverzeichnis

- [1] HEMSTRÖM, P.; IRGUM, K.: Hydrophilic interaction chromatography. In: *J. Sep. Sci.* 29 (2006), S. 1784–1821.
- [2] IKEGAMI, T.; TOMOMATSU, K.; TAKUBO, H.; HORIE, K.; TANAKA, N.: Separation efficiencies in hydrophilic interaction chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 1184 (2008), S. 474–503.
- [3] ALPERT, A. J.: Hydrophilic-interaction chromatography for the separation of peptides, nucleic acids and other polar compounds. In: *J. Chromatogr.* 499 (1990), S. 177–196.
- [4] RABEL, F. M.; CAPUTO, A. G.; BUTTS, E. T.: Separation of carbohydrates on a new polar bonded phase material. In: *J. Chromatogr.* 126 (1976), S. 731–740.
- [5] YANG, Y.-B.; VERZELE, M.: New water-compatible modified polystyrene as a stationary phase for high-performance liquid chromatography. In: *J. Chromatogr.* 387 (1987), S. 197–205.
- [6] CHURMS, S. C.: Recent progress in carbohydrate separation by high performance liquid chromatography based on hydrophilic interaction. In: *J. Chromatogr. A* 720 (1996), S. 75–91.
- [7] OYLER, A. R.; ARMSTRONG, B. L.; CHA, J. Y.; ZHOU, M. X.; YANG, Q.; ROBINSON, R. I.; DUNPHY, R.; BURINSKY, D. J.: Hydrophilic interaction chromatography on amino-silica phases complements reversed-phase high-performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for peptide analysis. In: *J. Chromatogr. A* 724 (1996), S. 378–383.
- [8] BOERSEMA, P. J.; MOHAMMED, S.; HECK, A. J. R.: Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) in proteomics. In: *Anal. Bioanal. Chem.* 391 (2008), S. 151–159.
- [9] NAIDONG, W.: Bioanalytical liquid chromatography tandem mass spectrometry methods on underivatized silica columns with aqueous/organic mobile phases. In: *J. Chromatogr. B* 796 (2003), S. 209–224.
- [10] HEMSTRÖM, P.; NYGREN, Y.; BJÖRN, E.; IRGUM, K.: Alternative organic solvents for HILIC separation of cisplatin species with on-line ICP-MS detection. In: *J. Sep. Sci.* 31 (2008), S. 599–603.
- [11] COOK, H. A.; HU, W.; FRITZ, J. S.; HADDAD, P. R.: A mechanism of separation in electrostatic ion chromatography. In: *Anal. Chem.* 73 (2001), S. 3022–3027.
- [12] COOK, H. A.; DICINOSKI, G. W.; HADDAD, P. R.: Mechanistic studies on the separation of cations in zwitterionic ion chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 997 (2003), S. 13–20.
- [13] NESTERENKO, P. N.; HADDAD, P. R.: Zwitterionic ion-exchangers in liquid chromatography. In: *Anal. Sci.* 16 (2000), S. 565–574.

- [14] NESTERENKO, E. P.; NESTERENKO, P. N.; PAULL, B.: Zwitterionic ion-exchangers in ion chromatography: a review of recent developments. In: *Anal. Chim. Acta* 652 (2009), S. 3–21.
- [15] STACH, H.: Bewertung von Ionen-Austauschern unter besonderer Berücksichtigung ihrer Austauschergeschwindigkeiten. In: *Angew. Chem.* 63 (1951), S. 263–267.
- [16] NESTERENKO, P. N.: Application of amino acid-bonded silicas as ion exchangers for the separation of anions by single-column ion chromatography. In: *J. Chromatogr.* 605 (1992), S. 199–204.
- [17] NESTERENKO, P. N.; ELEFTEROV, A. I.; TARASENKO, D. A.; SHPIGUN, O. A.: Selectivity of chemically bonded zwitterion-exchange stationary phases in ion chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 706 (1995), S. 59–68.
- [18] HU, W.; HADDAD, P. R.: Electrostatic ion chromatography using dilute electrolytes as eluents: a new method for separation of anions. In: *Anal. Commun.* 35 (1998), S. 317–320.
- [19] HU, W.; HASEBE, K.; TANAKA, K.; HADDAD, P. R.: Electrostatic ion chromatography of polarizable anions in saline waters with *N*-{2-[acetyl(3-sulfopropyl)amino]ethyl}-*N,N*-dimethyldodecanaminium hydroxide (ammonium sulfobetaine-1) as the stationary phase and a dilute electrolytic solution as the mobile phase. In: *J. Chromatogr. A* 850 (1999), S. 161–166.
- [20] YU, L. W.; FLOYD, T. R.; HARTWICK, R. A.: The synthesis and characterization of chemically bonded silica-based zwitterion-exchangers for HPLC. In: *J. Chromatogr. Sci.* 24 (1986), S. 177–182.
- [21] JIANG, W.; IRGUM, K.: Covalently bonded polymeric zwitterionic stationary phase for simultaneous separation of inorganic cations and anions. In: *Anal. Chem.* 71 (1999), S. 333–344.
- [22] NESTERENKO, E. P.; NESTERENKO, P. N.; PAULL, B.: Anion-exchange chromatography on short reversed-phase columns modified with amphoteric (*N*-dodecyl-*N,N*-dimethylammonio)alcanoates. In: *J. Chromatogr. A* 1178 (2008), S. 60–70.
- [23] NESTERENKO, E. P.: The investigation of ion-exchange properties of novel zwitterionic and amphoteric stationary phases and their application to the separation of inorganic and organic ions. Dublin City University, Dissertation, 2007.
- [24] HU, W.; TAKEUCHI, T.; HARAGUCHI, H.: Electrostatic ion chromatography. In: *Anal. Chem.* 65 (1993), S. 2204–2208.
- [25] HU, W.; HADDAD, P. R.; HASEBE, K.; TANAKA, K.: Electrostatic ion chromatography using hydroxide solutions as mobile phase with suppressed conductivity detection. In: *Anal. Commun.* 36 (1999), S. 309–312.
- [26] HU, W.; HASEBE, K.; DING, M.-Y.; TANAKA, K.: Direct determination of nitrite traces in high ionic-strength samples by electrostatic ion chromatography using diluted acid solutions as eluent. In: *Fresenius. J. Anal. Chem.* 371 (2001), S. 1109–1112.
- [27] HU, W.; HADDAD, P. R.; TANAKA, K.; HASEBE, K.: Electrostatic ion chromatography using a carboxybetaine-type zwitterionic surfactant as the stationary phase. In: *Anal. Bioanal. Chem.* 375 (2003), S. 259–263.



- [28] HU, W.: Studies on behaviors of interactions between zwitterionic surfactants and inorganic ions by using an ion chromatographic technique. In: *Langmuir* 15 (1999), S. 7168–7171.
- [29] SKOOG, D. A.; LEARY, J. J.: *Instrumentelle Analytik: Grundlagen, Geräte, Anwendung*. Berlin : Springer Verlag, 1996.
- [30] OTTO, M.: *Analytische Chemie*. 2. Auflage. Weinheim : Wiley-VCH, 2000.
- [31] TSWETT, M. S.: Trudy Varshavskogo Obshchestva Estestvoispytatelei. In: *Otd. Biologii* 14 (1905), S. 20–39.
- [32] TSWETT, M. S.: Adsorptionsanalyse und chromatographische Methode. Anwendungen auf die Chemie des Chlorophylls. In: *Ber. Deutsch. Bot. Ges.* 24 (1906), S. 384–393.
- [33] ETTRE, L. S.; SAKODYNSKII, K. I.: M. S. Tswett and the discovery of chromatography, I: early work (1899–1903). In: *Chromatographia* 35 (1993), S. 223–231.
- [34] CAMMANN, K.: *Instrumentelle Analytische Chemie*. Heidelberg : Spektrum Verlag, 2001.
- [35] ETTRE, L. S.: Nomenclature for chromatography. In: *Pure & Appl. Chem.* 65 (1993), S. 819–872.
- [36] GRIMM, A.: Entwicklung stationärer Phasen für die Ionenchromatographie zur Trennung von Kohlenhydraten. Philipps-Universität Marburg, Dissertation, 2006.
- [37] RASKOP, M.: Neue stationäre Phasen zum Einsatz in der Ionenchromatographie. Philipps-Universität Marburg, Dissertation, 2005.
- [38] MARTIN, A. J. P.; SYNGE, R. L. M.: A new form of chromatogram employing two liquid phases. In: *Biochem. J.* 35 (1941), S. 1358–1368.
- [39] RIESS, A. K.: Entwicklung stationärer Phasen für die Kationenchromatographie zur Analyse mono- und divalenter Kationen. Philipps-Universität Marburg, Dissertation, 2009.
- [40] SCHWEDT, G.: *Chromatographische Trennmethoden*. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 1979.
- [41] WEISS, J.: *Ionenchromatographie*. 3. Auflage. Weinheim : Wiley-VCH Verlag, 2001.
- [42] VAN DEEMTER, J. J.; ZUIDERWEG, F. J.; KLINKENBERG, A.: Longitudinal diffusion and resistance to mass transfer as causes of nonideality in chromatography. In: *Chem. Engineer. Sci.* 5 (1956), S. 271–289.
- [43] MARQUES, R. M. L.; SCHOENEMAKERS, P. J.: Modelling retention in reversed-phase liquid chromatography as a function of pH and solvent composition. In: *J. Chromatogr. A* 592 (1992), S. 157–182.
- [44] PEICHANG, L.; XIAOMING, L.: Development of a high-performance liquid chromatograph with artificial intelligence. In: *J. Chromatogr. A* 292 (1984), S. 169–188.
- [45] McCANN, M.; PURNELL, H.; WELLINGTON, C. A.: Mixed-solvent theory for liquid chromatography. In: *Faraday Symp. Chem. Soc.* 15 (1980), S. 83–91.
- [46] SCHOENEMAKERS, P. J.; BILLIET, H. A.; DE GALAN, L.: Systematic study of ternary solvent behaviour in reversed-phase liquid chromatography. In: *J. Chromatogr.* 218 (1981), S. 261–284.

- [47] POOLE, C. F.: The essence of chromatography. Amsterdam : Elsevier, 2003.
- [48] ANDERSON, C.: Ion chromatography: A new technique for clinical chemistry. In: *Clin. Chem.* 22 (1976), S. 1424–1426.
- [49] SMALL, H.; STEVENS, T. S.; BAUMAN, W. C.: Novel ion exchange chromatographic method using conductimetric detection. In: *Anal. Chem.* 47 (1975), S. 1801–1809.
- [50] EITH, C.; KOLB, M.; SEUBERT, A.: Praktikum der Ionenchromatographie - Eine Einführung. Metrohm Monographie, Herisau, 2000.
- [51] BILLIET, H. A. H.; DROUEN, A. C. J. H.; DE GALAN, L.: Rapid optimization of the concentration of the ion-pairing reagent in ion-pairing reversed-phase liquid chromatography. In: *J. Chromatogr.* 316 (1984), S. 231–240.
- [52] WHEATON, R. M.; BAUMAN, W. C.: Ion exclusion – a unit operation utilizing ion exchange materials. In: *Ind. Eng. Chem.* 45 (1953), S. 228–233.
- [53] HADDAD, P. R.; JACKSON, P. E.: Ion chromatography – principles and applications. Amsterdam : Elsevier, 1990 (Journal of Chromatography Library Series 46).
- [54] SHELLIE, R. A.; NG, B. K.; DICINOSKI, G. W.; POYNTER, S. D. H.; O'REILLY, J. W.; POHL, C. A.; HADDAD, P. R.: Prediction of analyte retention for ion chromatography separations performed using elution profiles comprising multiple isocratic and gradient steps. In: *Anal. Chem.* 80 (2008), S. 2474–2482.
- [55] HU, W.; HARAGUCHI, H.: Simultaneous separation of inorganic cations and anions by ion chromatography using a single column coated with weak/strong-charged zwitterionic bile salt micelles. In: *Anal. Chem.* 66 (1994), S. 756–767.
- [56] HU, W.; TAO, H.; HARAGUCHI, H.: Electrostatic ion chromatography. 2. Partitioning behaviors of analyte cations and anions. In: *Anal. Chem.* 66 (1994), S. 2514–2520.
- [57] HU, W.; HASEBE, K.; REYNOLDS, D. M.; UMEMURA, T.; KAMIYA, S.; ITOH, A.; HARAGUCHI, H.: A novel ion chromatographic method using zwitterionic surfactants as the stationary phase and water as the mobile phase. In: *J. Liq. Chrom. & Rel. Technol.* 20 (1997), S. 1903–1919.
- [58] UMEMURA, T.; KAMIYA, S.; ITOH, A.; CHIBA, K.; HARAGUCHI, H.: Evaluation of sulfobetaine-type zwitterionic stationary phases for ion chromatographic separation using water as a mobile phase. In: *Anal. Chim. Acta* 349 (1997), S. 231–238.
- [59] HU, W.; MIYAZAKI, A.; HARAGUCHI, H.: New approach to the simultaneous separation of inorganic cations and anions by ion chromatography based on ion-exchange and electrostatic interaction. In: *Anal. Sci.* 11 (1995), S. 999–1000.
- [60] HU, W.; HADDAD, P. R.; TANAKAR, K.; HASEBE, K.: Modulation of the separation selectivity of inorganic anions in electrostatic ion chromatography using acidic eluents. In: *Analyst* 125 (2000), S. 241–244.
- [61] HU, W.; HADDAD, P. R.: Electrostatic ion chromatography. In: *Trends Anal. Chem.* 17 (1998), S. 73–79.
- [62] HOFMEISTER, F.: Zur Lehre von der Wirkung der Salze. In: *Arch. Exp. Pathol. Pharmacol.* 24 (1888), S. 247–260.

- [63] ZHANG, Y.; CREMER, P. S.: Interactions between macromolecules and ions: the Hofmeister series. In: *Curr. Op. Chem. Biol.* 10 (2006), S. 658–663.
- [64] BALDWIN, R. L.: How Hofmeister ion interactions affect protein stability. In: *Biophys. J.* 71 (1996), S. 2056–2063.
- [65] ZHAO, H.; CAMPBELL, S. M.; JACKSON, L.; SONG, Z.; OLUBAJO, O.: Hofmeister series of ionic liquids: kosmotropic effect of ionic liquids on the enzymatic hydrolysis of enantiomeric phenylalanine methyl ester. In: *Tetrahedron Asym.* 17 (2006), S. 377–383.
- [66] HU, W.; HASEBE, K.; TANAKA, K.; FRITZ, J. S.: Determination of total acidity and of divalent cations by ion chromatography with n-hexadecylphosphocholine as the stationary phase. In: *J. Chromatogr. A* 956 (2002), S. 139–145.
- [67] ALPERT, A. J.: Electrostatic repulsion hydrophilic interaction chromatography for isocratic separation of charged solutes and selective isolation of phosphopeptides. In: *Anal. Chem.* 80 (2008), S. 62–76.
- [68] SNYDER, L. R.: Role of the solvent in liquid-solid chromatography – a review. In: *Anal. Chem.* 46 (1974), S. 1384–1393.
- [69] SNYDER, L. R.; POPPE, H.: Mechanism of solute retention in liquid-solid chromatography and the role of the mobile phase in affecting separation. In: *J. Chromatogr.* 184 (1980), S. 363–413.
- [70] ORTH, P.; ENGELHARDT, H.: Trennung von Zuckern an chemisch modifizierten Kieselgelen. In: *Chromatographia* 15 (1982), S. 91–96.
- [71] VERHAAR, L. A. T.; KUSTER, B. F. M.: Contribution to the elucidation of the mechanism of sugar retention on amine-modified silica in liquid chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 234 (1982), S. 57–64.
- [72] GUO, Y.; GAIKI, S.: Retention behavior of small polar compounds on polar stationary phases in hydrophilic interaction chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 1074 (2005), S. 71–80.
- [73] FA. SEQUANT AB: Zwitterionic hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) for ion analysis. Vortrag im Rahmen der 4. Conference über Ionenanalyse (CIA), Berlin, 12. März, 2007.
- [74] MEYER, V. R.: Praxis der Hochleistungs-Flüssigkeitschromatographie. 10. Auflage. Weinheim : Wiley-VCH, 2009.
- [75] TWOHILL, E.; PAULL, B.: Zwitterionic ion chromatography using a dynamically coated column and a mobile phase recycling. In: *J. Chromatogr. A* 973 (2002), S. 103–113.
- [76] LINDEGÅRDH, N.; HANPITHAKPONG, W.; WATTANOGON, Y.; SINGHASIVANON, P.; WHITE, N. J.; DAY, N. P. J.: Development and validation of a liquid chromatographic-tandem mass spectrometric method for determination of oseltamivir and its metabolite oseltamivir carboxylate in plasma, saliva and urine. In: *J. Chromatogr. B* 859 (2007), S. 74–83.
- [77] SEUBERT, A.: Neue Einsatzgebiete der On-line-Kopplung Hochleistungsflüssigkeitschromatographie-Atomspektrometrie in der Elementanalytik. Leibniz Universität Hannover, Habilitationsschrift, 1995.

- [78] NYGREN, Y.; HEMSTRÖM, P.; ÅSTOT, C.; NAREDI, P.; BJÖRN, E.: Hydrophilic interaction liquid chromatography (HILIC) coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry (ICPMS) utilizing a mobile phase with a low-volatile organic modifier for the determination of cisplatin, and its monohydrolyzed metabolite. In: *J. Anal. At. Spectrom.* 23 (2008), S. 948–954.
- [79] MONTERO, C. M.; DODERO, M. C. R.; SÁNCHEZ, D. A. G.; BARROSO, C. G.: Analysis of low molecular weight carbohydrates in food and beverages. In: *Chromatographia* 59 (2004), S. 15–30.
- [80] DORSEY, J. G.; COOPER, T. W.: Liquid chromatography: theory and methodology. In: *Anal. Chem.* 68 (1996), S. 515R–568R.
- [81] WEBER, G.: Selective detection of metal species in HPLC and FIA by means of pulsed amperometric detection (PAD). In: *Fresenius. J. Anal. Chem.* 356 (1996), S. 242–246.
- [82] LACOURSE, W. R.; OWENS, G. S.: Pulsed electrochemical detection of thiocompounds following microchromatographic separations. In: *Anal. Chim. Acta* 307 (1995), S. 301–319.
- [83] LACOURSE, W. R.; JOHNSON, D. C.: Optimization of waveforms for pulsed amperometric detection of carbohydrates based on pulsed voltammetry. In: *Anal. Chem.* 65 (1993), S. 50–55.
- [84] CASELLA, I. G.; GUASCITO, M. R.; CATALDI, T. R. I.: Electroanalysis and amperometric detection of alditols and sugars at a gold-nickel composite electrode in anion-exchange chromatography. In: *Anal. Chim. Acta* 398 (1999), S. 153–160.
- [85] LACOURSE, W. R.; JOHNSON, D. C.: Liquid chromatography with pulsed electrochemical detection at gold and platinum electrodes. In: *Anal. Chem.* 62 (1990), S. 589A–595A.
- [86] CLARKE, A. P.; JANDIK, P.; ROCKLIN, R. D.; LIU, Y.; AVDALOVIC, N.: An integrated amperometry waveform for the direct, sensitive detection of amino acids and amino sugars following anion-exchange chromatography. In: *Anal. Chem.* 71 (1999), S. 2774–2781.
- [87] WELCH, L. E.; LACOURSE, W. R.; MEAD, D. A.; JOHNSON, D. C.: Comparison of pulsed coulometric detection and potential-sweep pulsed coulometric detection for underivatized amino acids in liquid chromatography. In: *Anal. Chem.* 61 (1989), S. 555–559.
- [88] SONNENSCHN, L.: Ionenchromatographische Trennung und selektive Detektion von Flavonoid-Glycosiden und deren Al(III)-Komplexen mittels gepulster amperometrischer Detektion. Philipps-Universität Marburg, Diplomarbeit, 2007.
- [89] LINDEN, J. C.; LAWHEAD, C. L.: Liquid chromatography of saccarides. In: *J. Chromatogr.* 105 (1975), S. 125–133.
- [90] NIKOLOV, Z. L.; REILLY, P. J.: Retention of carbohydrates on silica and amine-bonded silica stationary phases: application of the hydration model. In: *J. Chromatogr.* 325 (1985), S. 287–293.
- [91] LI, R.; HUANG, J.: Chromatographic behavior of epirubicin and its analogues on high-purity silica in hydrophilic interaction chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 1041 (2004), S. 163–169.

- [92] BJÖRKLUND, M.; HEARN, M. T. W.: Synthesis of silica-based heparin-affinity adsorbents. In: *J. Chromatogr. A* 728 (1996), S. 149–169.
- [93] WONNACOTT, D. M.; PATTON, E. V.: Hydrolytic stability of aminopropyl stationary phases used in the size-exclusion chromatography of cationic polymers. In: *J. Chromatogr.* 389 (1987), S. 103–113.
- [94] LAFOSSE, M.; HERBRETEAU, B.; DREUX, M.; MORIN-ALLORY, L.: Contrôle de certains systèmes de chromatographie liquide haute performance à l'aide d'un détecteur évaporatif à diffusion de lumière. In: *J. Chromatogr.* 472 (1989), S. 209–218.
- [95] YOSHIDA, T.: Hydrolytic stability of aminopropyl stationary phases used in the size-exclusion chromatography of cationic polymers. In: *Anal. Chem.* 69 (1997), S. 3083–3043.
- [96] LANGROCK, T.; CZIHAL, P.; HOFFMANN, R.: Amino acid analysis by hydrophilic interaction chromatography coupled on-line to electrospray ionization mass spectrometry. In: *Amino Acids* 30 (2006), S. 291–297.
- [97] YOSHIDA, T.: Prediction of peptide retention time in normal-phase liquid chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 811 (1998), S. 61–67.
- [98] CIMINIELLO, P.; DELL' AVERSANO, C.; FATTORUSSO, E.; FORINO, M.; MAGNO, S.; SANTELIA, F.; TSOUKATOU, M.: Investigation of the toxin profile of Greek mussels *Mytilus galloprovincialis* by liquid chromatography-mass spectrometry. In: *Toxicon* 47 (2006), S. 174–181.
- [99] BRONS, C.; OLIEMAN, C.: Study of the high-performance liquid chromatographic separation of reducing sugars, applied to the determination of lactose in milk. In: *J. Chromatogr.* 259 (1983), S. 79–86.
- [100] TAKEUCHI, T.; SUZUKI, E.; ISHII, D.: Ion chromatography with micropacked alumina columns. In: *Chromatographia* 25 (1988), S. 480–482.
- [101] DOLGONOSOV, A. M.: Centrally localized ion exchangers as separating sorbents for ion chromatography: theory and application. In: *J. Chromatogr. A* 671 (1994), S. 33–41.
- [102] YANG, M.-H.; CHANG, K.-C.; LIN, J.-Y.: Multifunctional ion-exchange stationary phases for high-performance liquid chromatography. In: *J. Chromatogr. A* 722 (1996), S. 87–96.
- [103] RÍORDÁIN, C.; NESTERENKO, P.; PAULL, B.: Zwitterionic ion chromatography with carboxybetaine surfactant-coated particle packed and monolithic type columns. In: *J. Chromatogr. A* 1070 (2005), S. 71–78.
- [104] HU, W.; HADDAD, P. R.; HASEBE, K.; MORI, M.; TANAKA, K.; OHNO, M.; KAMO, N.: Use of a biomimetic chromatographic stationary phase for study of the interactions occurring between inorganic anions and phosphatidylcholine membranes. In: *Biophys. J.* 83 (2002), S. 3351–3356.
- [105] ISO, K.; OKADA, T.: Evaluation of electrostatic potential induced by anion-dominated partition into zwitterionic micelles and origin of selectivity in anion uptake. In: *Langmuir* 16 (2000), S. 9199–9204.
- [106] HU, W.; HADDAD, P. R.: Adsorption behaviour of zwitterionic surfactants onto a reversed-phase stationary phase. In: *Chromatographia* 52 (2000), S. 543–551.

- [107] RÍORDÁIN, C.; BARRON, L.; NESTERENKO, E.; NESTERENKO, P. N.; PAULL, B.: Double gradient ion chromatography using short monolithic columns modified with a long chained zwitterionic carboxybetaine surfactant. In: *J. Chromatogr. A* 1109 (2006), S. 111–119.
- [108] JIANG, W.; IRGUM, K.: Synthesis and evaluation of polymer-based zwitterionic stationary phases for separation of ionic species. In: *Anal. Chem.* 73 (2001), S. 1993–2003.
- [109] WEBER, G.; VON WIRÉN, N.; HAYEN, H.: Hydrophilic interaction chromatography of small metal species in plants using sulfobetaine- and phosphorylcholine-type zwitterionic stationary phases. In: *J. Sep. Sci.* 31 (2008), S. 1615–1622.
- [110] JIANG, W.; FISCHER, G.; GIRMAY, Y.; IRGUM, K.: Zwitterionic stationary phase with covalently bonded phosphorylcholine type polymer grafts and its applicability to separation of peptides in the hydrophilic interaction liquid chromatography mode. In: *J. Chromatogr. A* 1127 (2006), S. 82–91.
- [111] NESTERENKO, P. N.; KEBETS, P. A.: Ion-exchange properties of silica gel with covalently bonded histidine. In: *J. Anal. Chem.* 62 (2007), S. 2–7.
- [112] SUGRUE, E.; NESTERENKO, P. N.; PAULL, B.: Fast ion chromatography of inorganic anions and cations on a lysine bonded porous silica monolith. In: *J. Chromatogr. A* 1075 (2005), S. 167–175.
- [113] GRITTI, F.; PIATKOWSKI, W.; GUIOCHON, G.: Study of mass transfer kinetics in a monolithic column. In: *J. Chromatogr. A* 983 (2003), S. 51–71.
- [114] MÜLLER, W.: New ion exchangers for the chromatography of biopolymers. In: *J. Chromatogr.* 510 (1990), S. 133–140.
- [115] YAO, K.; YUN, J.; SHEN, S.; CHEN, F.: In-situ graft-polymerization preparation of cation-exchange supermacroporous cryogel with sulfo groups in glass columns. In: *J. Chromatogr. A* 1157 (2007), S. 246–251.
- [116] JIANG, W.; IRGUM, K.: Tentacle-type zwitterionic stationary phase prepared by surface-initiated graft polymerization of 3-[*N,N*-dimethyl-*N*-(methacryloyloxyethyl)-ammonium] propanesulfonate through peroxide groups tethered on porous silica. In: *Anal. Chem.* 74 (2002), S. 4682–4687.
- [117] RASKOP, M.; SEUBERT, A.; GRIMM, A.: Ionenaustauschmaterial, Ionenaustauschsäule und Herstellungsverfahren. EP 1 842 592 A1, Metrohm AG, Herisau, 2007.
- [118] THEIS, V.: Herstellung und Charakterisierung pfropfpolymerisierter Anionenaustauscher für die Ionenchromatographie. Philipps-Universität Marburg, Dissertation, noch nicht veröffentlicht.
- [119] SCHABRAM, K.: Vergleich verschiedener Herstellungsverfahren für sulfonierte Kationenaustauscher. Philipps-Universität Marburg, Diplomarbeit, 2007.
- [120] THEIS, V.: Synthese und Charakterisierung von chiralen stationären Phasen für die Ionenaustauschchromatographie. Philipps-Universität Marburg, Diplomarbeit, 2006.
- [121] BEERMANN, A.: Mechanistische Untersuchungen zur radikalischen Polymerisation von Ionomeren an hochquervernetztem PS/DVB. Philipps-Universität Marburg, Diplomarbeit, 2010.

- [122] PICCHIONI, F.; GOOSSENS, J. G. P.; VAN DUIN, M.; MAGUSIN, P.: Solid-state modification of isotactic polypropylene (iPP) via grafting of styrene. I. Polymerization experiments. In: *J. Appl. Poly. Sci.* 89 (2003), S. 3279–3291.
- [123] FISHER, S.; KUNIN, R.: Routine exchange capacity determinations of ion exchange resins. In: *Anal. Chem.* 27 (1955), S. 1191–1194.
- [124] KING, J. F.; SKONIECZNY, S.: Trimethylammoniomethynesulfinate and trimethylammonio-methanesulfonate, the simplest sulfinic and sulfonic acid betaines. Revision of the structure of the trimethylamine oxide-sulfur dioxide product. In: *Phosphorus and Sulfur* 25 (1985), S. 11–20.
- [125] HART, R.; TIMMERMAN, D.: New polyampholytes: the polysulfobetaines. In: *J. Polymer Sci.* 28 (1958), S. 638–640.
- [126] FUJII, A.; COOK, E. S.: Probiotics. Antistaphylococcal and antifibrinolytic activities of  $\omega$ -amino- and  $\omega$ -guanidinoalkanesulfonic acids. In: *J. Med. Chem.* 18 (1975), S. 502–505.
- [127] SPENCER, T. A.; ONOFREY, T. J.; CANN, R. O.; RUSSEL, J. S.; LEE, L. E.; BLANCHARD, D. E.; CASTRO, A.; GU, P.; JIANG, G.; SHECHTER, I.: Zwitterionic sulfobetaine inhibitors of squalene synthase. In: *J. Org. Chem.* 64 (1999), S. 807–818.
- [128] KLINGENBERG, A.: Herstellung und Charakterisierung neuartiger Ionenaustauscher zum Einsatz in der Kationenchromatographie. Universität Hannover, Dissertation, 1993.
- [129] FUKUNAGA, K.; YAMAGUCHI, H.: Debromination of *vic*-dibromides with sodium sulfide in dimethylformamide. In: *Synthesis* 11 (1981), S. 879–880.
- [130] BADDELEY, G.; WRENCH, E.; WILLIAMSON, R.: Reaction of indane and tetralin with excess of acetylating agent. In: *J. Chem. Soc.* (1953), S. 2110–2115.
- [131] BODWELL, G. J.; LI, J.; MILLER, D. O.: Synthesis, structure and AM1 conformational study of [3]paracyclol[3](1,3)indolophane, a novel chiral cyclophane. In: *Tetrahedron* 55 (1999), S. 12939–12956.
- [132] LIU, H.-L.; HOFF, B. H.; ANTHONSEN, T.: Chemoenzymatic synthesis of the non-tricyclic antidepressants Fluoxetine, Tomoxetine and Nisoxetine. In: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. I* 11 (2000), S. 1767–1770.
- [133] GUARANA, A.; MENCHI, G.; BERTI, G.; CINI, N.; BOTTONCETTI, A.; RASPANTI, S.; POLITI, A.; PUPI, A.: Synthesis and preliminary biological characterization of a new potential  $^{125}\text{I}$ -radioligand for dopamine and serotonin receptors. In: *Bioorg. Med. Chem.* 9 (2001), S. 3197–3206.
- [134] WEERS, J. G.; RATHMAN, J. F.; AXE, F. U.; CRICLOW, C. A.; FOLAND, L. D.; SCHEUING, D. R.; WIERSEMA, R. J.; ZIELSKE, A. G.: Effect of the intramolecular charge separation distance on the solution properties of betaines and sulfobetaines. In: *Langmuir* 7 (1991), S. 854–867.
- [135] ATKINS, P. W.: Physikalische Chemie. 3. Auflage. Weinheim : Wiley-VCH, 2002.
- [136] KOLTHOFF, I. M.; MILLER, I. K.: The chemistry of persulfate. I. The kinetics and mechanism of the decomposition of the persulfate ion in aqueous medium. In: *J. Am. Chem. Soc.* 73 (1951), S. 3055–3059.
- [137] WINSCHER, R.: Sulfinsäurederivate als Initiatoren zur Emulsionspolymerisation. Universität Hamburg, Dissertation, 2004.

- [138] FLORY, P. J.: Principles of polymer chemistry. 18. Auflage. Ithaca : Cornell University Press, 2002.
- [139] PAINTER, P. C.; COLEMAN, M. M.: Fundamentals of polymer science. 2. Auflage. Boca Raton : CRC Press, 1998.
- [140] GOMBERG, M.: An instance of trivalent carbon: triphenylmethyl. In: *J. Am. Chem. Soc.* 22 (1900), S. 757–771.
- [141] SCHREINER, K.; BERNDT, A.; BAER, F.: Spin density distribution and stereochemistry of triphenylmethyl radical in solution – Reinvestigation of  $^{13}\text{C}$  E.S.R. coupling constants. In: *Mol. Phys.* 26 (1973), S. 929–939.
- [142] COWIE, J. M. G.: Chemie und Physik der synthetischen Polymere. Wiesbaden : Vieweg, 1991.
- [143] EYRING, H.: The activated complex in chemical reactions. In: *J. Chem. Phys.* 3 (1935), S. 107–115.
- [144] HU, W.; HASEBE, K.; TANAKA, K.; FRITZ, J. S.; INOUE, S.; OZEKI, M.: Determination of inorganic acids by ion chromatography with *n*-tetradecylphosphocholine (zwitterionic surfactant) as the stationary phase and pure water as the mobile phase. In: *Fresenius. J. Anal. Chem.* 370 (2001), S. 399–402.
- [145] HU, W.; CAO, S.; TOMINAGA, M.; MIYAZAKI, A.: Direct determination of bromide ions in sea water by ion chromatography using water as the mobile phase. In: *Anal. Chim. Acta* 322 (1996), S. 43–47.
- [146] MACKA, M.; HADDAD, P. R.: Elution mechanism in electrostatic ion chromatography with histidine as an isoelectric ampholytic mobile phase. In: *J. Chromatogr. A* 884 (2000), S. 287–296.
- [147] JANDER, G.; JAHR, K. F.; SCHULZE, G.; SIMON, J.: Maßanalyse. Bd. 16. Berlin : Walter de Gruyter, 2002.
- [148] RIPIN, D. H.; EVANS, D. A.: Evans  $\text{pK}_a$  table. [http://evans.harvard.edu/pdf/evans\\_pKa\\_table.pdf](http://evans.harvard.edu/pdf/evans_pKa_table.pdf), Version: November 2005, abgerufen: 26.10.2010.
- [149] TAYLOR, W. R.: The classification of amino acid conservation. In: *J. Theoret. Biol.* 119 (1986), S. 205–218.
- [150] MORTIMER, C. E.; MÜLLER, U.: Chemie. Das Basiswissen der Chemie. 8. Auflage. Stuttgart : Georg Thieme Verlag, 2003.
- [151] IFA: GESTIS-Stoffdatenbank. <http://www.dguv.de/ifa/de/gestis/stoffdb/index.jsp> : Institut für Arbeitsschutz der Deutschen Gesetzlichen Unfallversicherung (IFA), abgerufen: 26.10.2010.
- [152] SANGSTER, J.: LOGKOW – A databank of evaluated octanol-water partition coefficients (Log P). <http://logkow.cisti.nrc.ca/logkow/> : Sangster Research Laboratories, abgerufen: 26.10.2010.
- [153] SMITH, D. W.: Ionic hydration enthalpies. In: *J. Chem. Edu.* 54 (1977), S. 540–542.



- [154] OKADA, T.: Nonaqueous ion-exchange chromatography and electrophoresis. Approaches to nonaqueous solution chemistry and design of novel separation. In: *J. Chromatogr. A* 804 (1998), S. 17–28.
- [155] ARSHAD, N.; JANJUA, N. K.; AHMED, S.; KHAN, A. Y.; SKIBSTED, L. H.: Electrochemical investigations of antioxidant interactions with radical anion and dianion of 1,3-dinitrobenzene. In: *Electrochim. Acta* 54 (2009), S. 6184–6189.
- [156] ROTHWELL, J. A.; DAY, A. J.; MORGAN, M. R. A.: Experimental determination of octanol-water partition coefficients of quercetin and related flavonoids. In: *J. Agric. Food Chem.* 53 (2005), S. 4355–4360.
- [157] WINDHAUS, J.: Herstellung und Charakterisierung von agglomerierten Anionenaustauschern. Philipps-Universität Marburg, Diplomarbeit, 2010.
- [158] HAPPEL, O.: Elementspeziesanalytik anionischer Aluminium-Carbonsäure-Komplexe mittels Ionenchromatographie. Philipps-Universität Marburg, Dissertation, 2007.
- [159] PALMI, M.; YOUNBI, G. T.; FUSI, F.; SGARAGLI, G. P.; DIXON, H. B. F.; FROSINI, M.; TIPTON, K. F.: Potentiation of mitochondrial  $\text{Ca}^{2+}$  sequestration by taurine. In: *Biochem. Pharm.* 58 (1999), S. 1123–1131.
- [160] PRESTON, A. J.; GALLUCCI, J. C.; PAQUETTE, L. A.: Synthesis and selected reactions of a bicyclic sultam having sulfur at the apex position. In: *J. Org. Chem.* 71 (2006), S. 6573–6578.
- [161] GALIN, M.; CHAPOTON, A.; GALIN, J.-C.: Dielectric increments, interchange distances and conformation of quarternary ammonioalkylsulfonates and alkoxydicyanoethenolates in aqueous and trifluoroethanol solutions. In: *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 2* (1993), Nr. 3, S. 545–553.
- [162] UGELSTADT, J.: Swelling capacity of aqueous dispersions of oligomer and polymer substances and mixtures thereof. In: *Makromol. Chem.* 179 (1978), S. 815–817.



# Lebenslauf

## Persönliche Daten

Name: Lukas Sonnenschein  
Adresse: Heusingerstraße 7, 35037 Marburg  
Geburtsdatum: 19. September 1981  
Geburtsort: Langenhagen  
Familienstand: Verheiratet

## Schulausbildung

1988 – 1992 Anton-Kligl-Schule Bad Kissingen, Grundschule  
1992 – 2001 Staatliches Gymnasium Bad Kissingen  
29. Juni 2001 Allgemeine Hochschulreife

## Zivildienst

2001 – 2002 Zentrallabor der Bundesversicherungsanstalt für Angestellte, Bad Kissingen

## Studium

2002 – 2007 Diplomstudiengang Chemie, Philipps-Universität Marburg  
25. Mai 2007, Diplom

## Berufstätigkeit

2007 – 2010 Wissenschaftlicher Mitarbeiter am Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Andreas Seubert

## Promotion

2007 – 2010 Promotionsthema: Synthese und Charakterisierung neuer zwitterionischer stationärer Phasen für die Zwitterionenchromatographie und die ZIC-HILIC, Fachbereich Chemie der Philipps-Universität Marburg, Analytische Chemie, Arbeitsgruppe Prof. Dr. Andreas Seubert



# Publikationsverzeichnis

## Publikationen

- 10/2010 SONNENSCHNEIN, L.; SEUBERT, A.: Separation of inorganic anions using a series of sulfobetaine exchangers. In: *J. Chromatogr. A* (2011), re-submitted after revision.
- 11/2010 SONNENSCHNEIN, L.; SEUBERT, A.: Synthesis of a series of monomeric styrene sulfobetaine precursors. In: *Tetrahedron Lett.* (2011), accepted.
- 11/2010 SONNENSCHNEIN, L.; SEUBERT, A.: Separation of  $\alpha$ -amino acids using a series of zwitterionic sulfobetaine exchangers. In: *J. Chromatogr. Sci.* (2011), submitted.

## Vorträge

- 09/2010 SONNENSCHNEIN, L.; SEUBERT, A.: Separation of inorganic anions by EIC/ZIC using a homologous row of sulfobetaine exchangers. 22nd International Ion Chromatography Symposium – IICS, Cincinnati, OH, USA, 2010.

## Poster

- 03/2007 SONNENSCHNEIN, L.; SEUBERT, A.: Ionenchromatographische Trennung und selektive Detektion von Flavonoid-Glycosiden und deren Al(III)-Komplexen mittels gepulster amperometrischer Detektion. 4. Conference über Ionenanalyse – CIA, Berlin, 2007.



# Erklärung

Ich versichere, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Titel

**Synthese und Charakterisierung neuer  
zwitterionischer stationärer Phasen für die  
Zwitterionenchromatographie und die ZIC-HILIC**

selbständig, ohne unerlaubte Hilfe angefertigt und mich dabei keiner anderen als der von mir ausdrücklich bezeichneten Quellen und Hilfen bedient habe. Die Dissertation wurde in der jetzigen oder einer ähnlichen Form noch bei keiner anderen Hochschule eingereicht und hat noch keinen sonstigen Prüfungszwecken gedient.

---

Ort, Datum

---

Lukas Sonnenschein